

SÉRIE A.

N° 1748

N° D'ORDRE : 2614

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ÈS-SCIENCES-NATURELLES

PAR

Jean CHEYMOL

Docteur en Pharmacie
Docteur en Médecine

1^{re} THÈSE

LE VERBÉNALOSIDE

ÉTUDE CHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE

2^e THÈSE

ACTION DU VERBÉNALOSIDE SUR QUELQUES ORGANISMES

Soutenue le octobre 1937, devant la Commission d'Examen

22 OCT 1937

M. ROBERT-LÉVY

Président.

Mme RAMART-LUCAS

M. RAOUL COMBES

Examineurs.

SAINT-AMAND (CHER)

IMPRIMERIE CLERC (S. A. R. L.)

1937

SÉRIE A,

N° 1748

N° D'ORDRE : 2614

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ÈS-SCIENCES-NATURELLES

PAR

Jean CHEYMOL

Docteur en Pharmacie

Docteur en Médecine

1^{re} THÈSE

LE VERBÉNALOSIDE

ÉTUDE CHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE

2^e THÈSE

ACTION DU VERBÉNALOSIDE SUR QUELQUES ORGANISMES

Soutenue le octobre 1937, devant la Commission d'Examen

M. ROBERT-LÉVY

Président.

Mme RAMART-LUCAS

M. RAOUL COMBES

} *Examineurs.*

SAINT-AMAND (CHER)

IMPRIMERIE CLERC (S. A. R. L.)

1937

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

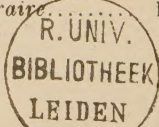
Doyen honoraire..... M. MOLLIARD
Doyen..... C. MAURAIN, Professeur, Physique du Glo 1c.

Professeurs honoraires	{	H. LEBESGUE.	PÉCHARD.	MARCHIS.
		A. FERNBACH.	FREUNDLER.	VESSIOT.
		Emile PICARD.	AUGER.	PORTIER.
		LÉON BRILLOUIN.	BLAISE.	MOLLIARD.
		GUILLET.	DANGEARD.	LAPICQUE
		LESPIEAU.		

PROFESSEURS

G. BERTRAND....	T	Chimie biologique.	F. PICARD.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
M. CAULLERY....	T	Zoologie Evolution des êtres organisés).	Henri VILLAT....	T Mécanique des fluides et applications.
G. URBAIN.....	T	Chimie générale.	Ch JACOB.....	T Géologie.
Emile BOREL ..	T	Calcul des probabilités et Physique mathématique.	P. PASCAL.....	T Chimie minérale
Jean PERRIN... .	T	Chimie physique.	M. FRÉCHET... .	T Calcul différentiel et Calcul intégral.
Il. ABRAHAM....	T	Physique.	E. ESCLANGON... .	T Astronomie.
E. CARTAN.	T	Géométrie supérieure.	M ^{me} RAMART-LUCAS	T Chimie organique.
A. COTTON.....	T	Recherches physiques.	H BÉGHIN.....	T Mécanique physique et expérimentale
J DRACH.....	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	FOCH.....	Mécanique expérimentale des fluides.
Charles FABRY... .	T	Enseignement de Physique.	PAUTHENIER.	Physique (P. C. B.).
Charles PÉREZ... .	T	Zoologie.	De BROGLIE.	T Théories physiques.
Léon BERTRAND.	T	Géologie structurale et géologie appliquée.	CHRÉTIEN.	Optique appliquée.
E. RABAUD....	T	Biologie expérimentale.	P. JOB.	Chimie générale.
M. GUICHARD...		Chimie minérale.	LABROUSTE.....	Physique du Globe.
Paul MONTEL....	T	Théorie des fonctions et théorie des transformations	L'RENANT.....	Zoologie.
P. WINTREBERT..	T	Anatomie et histologie comparées.	VILLEY.....	Mécanique physique et expérimentale.
L. BLARINGHEM..	T	Botanique.	BOHN.....	Zoologie (P. C. B.).
O. DUBOSCQ	T	Biologie maritime.	COMBES.....	T Physiologie végétale.
G. JULIA.....	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste	GARNIER.	T Mathématiques générales.
C MAUGUIN	T	Minéralogie.	PÈRES.	Mécanique théorique des fluides.
A. MICHEL-LÉVY.	T	Pétrographie.	HACKSPILL.....	Chimie (P. C. B.).
H. BÉNARD.....	T	Mécanique expérimentale des fluides.	LAUGIER.....	T Physiologie générale.
A. DENJOY....	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	TOUSSAINT.....	Technique Aéronautique
L. LUTAUD.....	T	Géographie physique et géologie dynamique.	M CURIE.....	Physique (P. C. B.).
Eugène BLOCH... .	T	Physique théorique et physique céleste.	G RIBAUD.....	T Hautes températures.
G BRUHAT.....		Physique.	CHAZY.	T Mécanique rationnelle.
E. DARMOIS.....		Enseignement de Physique.	GAULT.....	Chimie (P. C. B.).
A. DEBIERNE....	T	Physique Générale et Radioactivité.	CROZE	Recherches physiques.
A. DUFOUR.....	T	Physique (P. C. B.).	DUPONT.....	T Théories chimiques.
L. DUNOYER....		Optique appliquée.	LANQUINE.....	Géologie.
A. GUILLIERMOND	T	Botanique.	VALIRON.....	Mathématiques générales.
M. JAVILLIER....		Chimie biologique.	BARRABÉ.....	Géologie structurale et géologie appliquée.
L. JOLEAUD.....		Paléontologie.	MILLOT.....	Zoologie P. C. B.).
ROBERT-LÉVY....	T	Physiologie comparée.	F PERRIN.....	Théories physiques.
			VAYON.....	Chimie organique
			G. DARMOIS.....	Calcul des probabilités et Physique-Mathématique.

Secrétaire..... A. PACAUD.
Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK.



A mon ami JEAN BIRON

*tué au Chemin des Dames,
à vingt ans, il y a vingt ans.*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

En 1908, Léon BOURDIER [7] [8] (*) découvre dans la Verveine officinale (*Verbena officinalis* L.) un hétéroside cristallisé nouveau qu'il baptise : *verbénaline* (**).

Dans les conclusions de sa thèse de doctorat en pharmacie, il en résulte les caractères trouvés de la façon suivante :

« La verbénaline est soluble dans l'eau, l'alcool éthylique, l'alcool méthylique, l'éther acétique, l'acétone, et cristallise à l'état anhydre dans tous ces dissolvants ; elle est complètement insoluble dans l'éther ordinaire et le chloroforme. Elle est lévogyre et son pouvoir rotatoire en solution aqueuse est $(\alpha)_D = -180^\circ, 5$. Elle fond nettement à $181^\circ, 5$.

« La verbénaline se différencie de tous les glucosides hydrolysables par l'émulsine actuellement connus ; ceux-ci, en effet, pour la plupart, ne réduisent pas la liqueur cupro-potassique, quelques-uns seulement possèdent de faibles propriétés réductrices ; la verbénaline, au contraire, est douée d'un fort pouvoir réducteur : 1 g. de verbénaline réduit sensiblement comme 0 g., 875 de glucose.

« La verbénaline réduit à froid l'azotate d'argent ammoniacal. La verbénaline forme à froid avec l'acétate de

(*) Les chiffres entre crochets renvoient à l'index bibliographique.

(**) Pour appliquer les décisions de la 5^e Conférence internationale de Chimie pure et appliquée (Copenhague 1924), le nom de *verbénaline* doit être transformé en *verbénalosite*.

« phénylhydrazine un composé cristallisé de couleur rouge.
« Avec l'hydroxylamine, elle donne une combinaison cristallisée incolore, qui, chauffée, noircit et se décompose vers 155° avant de fondre. Ces propriétés permettent de supposer qu'elle possède une fonction aldéhydique libre.

« La verbénaline est hydrolysée assez lentement par l'acide sulfurique étendu bouillant. Elle est également hydrolysée par l'émulsine avec formation de glucose *d* et d'un corps que je n'ai pu encore obtenir à l'état cristallisé, mais qui paraît posséder une fonction phénol.

« L'analyse élémentaire et la cryoscopie permettent de proposer pour la verbénaline la formule $C_{17}H_{25}O_{10}$.

« La verbénaline n'est pas toxique. »

Ayant donné ces différents caractères, LÉON BOURDIER termine son travail en disant : « *J'ai l'intention de poursuivre mes recherches sur la verbénaline dans le but d'établir sa constitution chimique et de déterminer, s'il y a lieu, ses propriétés thérapeutiques.* »

Des circonstances indépendantes de sa volonté l'ont empêché de continuer cette étude. D'accord avec lui et sur les conseils de mon Maître, Monsieur le professeur HENRI HERISSEY, j'ai poursuivi ce travail.

En 1935, B. REICHERT [96], étudiant le même sujet, rapproche du travail de L. BOURDIER un mémoire de E.-R. MILLER [82], paru en 1928, dans lequel ce dernier décrit un hétéroside, la cornine, entrevu par Ph.-L. GEIGER en 1834 [51] dans l'écorce d'un arbre américain, le *Cornus florida* L. B. REICHERT, après avoir extrait les hétérosides de ces deux plantes, les compare, et conclut à l'identité des deux principes. Il donne la priorité du nom à la cornine. Ce point est très discutable, Ph.-L. GEIGER appelle *cornine* ou *acide cornique* des cristaux impurs à réaction acide, lui paraissant contenir de l'azote, car, chauffés avec un alcali, ils émettent des vapeurs blanches avec

l'acide chlorhydrique, ces caractères étant dus à des impuretés ; au contraire, en 1908, L. BOURDIER indique des caractères physiques correspondant à un corps pur, caractères retrouvés par ceux qui ont étudié le même hétéroside. C'est donc le nom de *verbénaline*, ou du moins de *verbénalosite* suivant la nouvelle nomenclature qu'il faut conserver.

Voici le plan utilisé au cours de mes recherches :

PLAN

ETUDE CHIMIQUE

EXTRACTION a/ à partir du *Verbena officinalis* L.

b/ à partir du *Cornus florida* L.

PURIFICATION

Caractères physiques.

Caractères chimiques.

Hydrolyse : par l'émulsine.

par l'acide sulfurique.

ETUDE DES PRODUITS D'HYDROLYSE.

1. — Sucre.

2. — Verbénalol.

HÉTÉROSIDES DÉRIVÉS DU VERBÉNALOSIDE.

Hydroverbénalosite.

Acide verbénalosidique.

Oxime du verbénalosite.

Conclusions sur la constitution du verbénalosite.

ETUDE PHYSIOLOGIQUE

PREMIERE PARTIE

L'HYDROLYSE FERMENTAIRE

1. — Hydrolyse du verbénaloside par différents ferments.
2. — Vitesse comparative de ces divers ferments sur l'hydrolyse de cet hétéroside.
3. — Activité fermentaire de la poudre de *Verbena officinalis* L.
4. — Origine de l'anhydride carbonique dégagé au cours de l'hydrolyse par l'émulsine.

DEUXIEME PARTIE

RÉPARTITION DANS LA PLANTE DU VERBÉNALOSIDE, AINSI QUE DES AUTRES GLUCIDES.

1. — Technique des essais biochimiques.
2. — Etude de l'indice enzymolytique du verbénaloside.
3. — Calcul des résultats.

A. — *Verbena officinalis* L.

1. — Etude comparative des différentes parties de la plante au point de vue glucidique (oses, holosides, verbénaloside).

Extraction du stachyose des racines et des tiges.

- 2 — Modifications apportées par la dessiccation à la composition glucidique.

3. — Variations dans la composition glucidique au cours de la végétation d'une année (août 1935 - juillet 1936).

B. — Genre VERBENA.

(Extraction du stachyose des parties souterraines du *V. venosa*).

C. — Autres genres de la famille des Verbénacées.

D. — *Famille des Myoporinées.*

E. — *Ecorces de racines des Cornus florida L., C. Mas L.,
C sanguinea L.*

F. — *Conclusions.*

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

*
**

Depuis 1920, j'ai le grand avantage d'être l'élève de Monsieur le professeur HENRI HERISSEY. Pendant mes cinq années d'internat, il m'a initié à la recherche et je lui dois toute ma formation scientifique. Mon passage dans divers laboratoires de recherches ne m'a pas fait oublier le chemin du sien et j'ai toujours trouvé auprès de lui conseils, aide et réconfort. Que ce guide bienveillant et affectueux trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

J'ai été très heureux de profiter des excellents conseils que Monsieur le professeur JOSEPH BOUGAULT a bien voulu me donner.

Monsieur le professeur RAOUL COMBES m'a proposé, en physiologie végétale, des suggestions fructueuses et il a mis aimablement à ma disposition ses terrains d'expériences de Versailles. Je le prie de trouver ici l'assurance de ma gratitude.

Madame RAMART-LUCAS, professeur à la Sorbonne, a eu la grande amabilité d'examiner le verbénaloside et ses dérivés au point de vue de la détermination des courbes d'absorption dans l'ultra-violet, je l'en remercie respectueusement.

Je suis très sensible à l'honneur que m'a fait Monsieur le professeur ROBERT LEVY en acceptant la présidence de cette thèse.

ÉTUDE CHIMIQUE DU VERBÉNALOSIDE

EXTRACTION : à partir du *Verbena officinalis* L.
à partir du *Cornus florida* L.

PURIFICATION.

CARACTÈRES PHYSIQUES.

CARACTÈRES CHIMIQUES.

HYDROLYSES : par l'émulsine,
par l'acide sulfurique.

Etude des produits d'hydrolyse.

sucres : glucose,
aglucone : verbénalol.

HÉTÉROSIDES DÉRIVÉS DU VERBÉNALOSIDE.

Tétrahydroverbénalosite.

Acide verbénalositique.

Acétylverbénalosite.

Oxime du verbénalosite.

CONCLUSIONS SUR LA CONSTITUTION DU VERBÉNALOSIDE.

CHAPITRE PREMIER

EXTRACTION

PURIFICATION

CARACTÈRES PHYSIQUES

CARACTÈRES CHIMIQUES

EXTRACTION

MATIÈRES PREMIÈRES. — Pour l'extraction du verbénalosite j'ai utilisé uniquement les parties aériennes de la Verveine officinale, les parties souterraines étant moins riches en cet hétéroside. (*).

La plante a été cueillie à deux stades de végétation, au printemps (mai) avant la floraison, la plante étant peu feuillue, et en été (août), les hampes florales portant à la fois des boutons, fleurs, et fruits encore verts.

Dans des expériences rapportées plus loin (**), la dessiccation de la Verveine suspendue à l'ombre, dans un courant d'air — procédé employé habituellement par les ramasseurs — entraîne une perte de 28, 7 p. 100 d'hétéroside pour les parties aériennes (***).

Malgré cette diminution assez considérable en principe actif, j'ai surtout employé les parties aériennes sèches. la perte étant largement compensée par l'avantage de pouvoir utiliser la plante sèche (facilité de récolte loin du laboratoire, transport facile, extraction faite selon les possibilités en temps et en matériel, etc...).

Par dessiccation, les parties aériennes perdent 80 p. 100 de leur poids en mai et 74 p. 100 en août (****).

L'extraction a porté sur six kgs de parties aériennes fraîches récoltées aux environs de Versailles et sur 105

(*) V. p. : 174.

(**) V. p. : 186.

(***) L. BOURDIER, utilisant la dessiccation à l'étuve à 32-33°, constate une perte d'environ 16 p. 100 en verbénalosite pour la plante entière.

(****) V. p. : 208 et p. : 199.

kgs de parties aériennes sèches cueillies dans la région de Milly (60 kgs en mai, 45 kgs en août). Les 105 kgs de drogue sèche correspondent à plus de 450 kgs de Verveine fraîche.

TRAITEMENT. — (toujours effectué dans le mois suivant le ramassage).

Un kg de parties aériennes sèches, coupé à la machine en fragments d'environ un à trois millimètres de longueur, est épuisée une première fois par six litres d'alcool à 65° (*) bouillant pendant une heure, puis une deuxième fois, par quatre litres d'alcool de même titre. Les liqueurs alcooliques sont filtrées puis, additionnées de vingt grammes de carbonate de calcium, elles sont distillées à fond sous la pression atmosphérique, afin de retirer tout l'alcool. Les liqueurs aqueuses restantes sont concentrées en s'aidant du vide jusqu'à consistance sirupeuse. L'extrait aqueux, versé dans une ampoule à décantation, est traité par l'éther pour enlever la chlorophylle. Cette opération est très laborieuse ; après treize lavages, l'éther reste légèrement coloré en vert. L'extrait fluide, lavé à l'éther, est concentré dans le vide profond jusqu'à consistance ferme.

Les rendements en extrait ont varié de 16 à 25 p. 100 de la drogue sèche, plus élevés pour la plante fleurie cueillie en août que pour celle du printemps.

Ce type d'extrait adopté, j'ai fait réaliser industriellement le traitement de 100 kgs de parties aériennes de *Verbena officinalis* L. (**).

Sur ces extraits, j'ai étudié plusieurs procédés d'extraction :

a) Poudre déféquée plombique.

H. HÉRISSEY a mis au point en 1932 [61], une technique

(*) L'emploi d'un alcool de titre faible a pour but de compenser l'état de dessiccation et permettre ainsi la dissolution des principes solubles à la fois dans l'alcool et dans l'eau.

(**) Les Etablissements BOULANGER-DAUSSE se sont chargés, gracieusement, de la préparation de ces extraits. Je suis très heureux de les remercier ici.

d'extraction qui, dans beaucoup de cas, donne d'excellents résultats.

100 g. d'extrait sont repris au bain-marie bouillant par 120 cm³. d'eau. Sur 2 cm³. de liquide dilués au dixième, on cherche la quantité de sous-acétate de plomb nécessaire pour obtenir après filtration un liquide limpide (5 cm³.). Au liquide extractif on ajoute donc 300 cm³. de sous-acétate de plomb, on mélange au mortier avec un pilon, puis on additionne 1 g. de sulfate de sodium desséché pour 0 cm³., 75 de sous-acétate de plomb et 0 g., 25 de carbonate de calcium pour 1 g. de sulfate de sodium. On mélange intimement et la bouillie épaisse est laissée au repos ; elle durcit. Le lendemain, on casse la masse en fragments. Ces derniers, après dessiccation à l'air, sont pulvérisés.

La « poudre déféquée » obtenue est alors épuisée dans un ballon par de l'éther acétique anhydre. Cet éther acétique décanté bouillant ne cristallise pas directement sur amorce de verbénaloside. Concentré au dixième, il trace faiblement sur les amorces. Les épuisements par l'éther acétique anhydre ne donnent que des traces de cristallisation, il en est de même pour l'éther acétique à 2 p. 100 d'alcool à 95°. L'éther acétique hydraté donne des cristallisations plus abondantes, mais alors la « poudre déféquée » s'hydrate, se prend en masse dans le ballon et l'agitation devient très difficile.

b) *Défécation par la magnésie et le carbonate de magnésie.*

Par l'emploi de ces réactifs défécants J. RABATÉ a isolé différents hétérosides.

Des essais effectués sur des extraits de *Verbena officinalis* ont été décevants. Ces échecs sont faciles à comprendre lorsqu'on connaît la sensibilité du verbénaloside, corps lactonique, à l'action des alcalis (*).

(*) V. p. : 34 et p. 90.

c) *Traitement sans défécation.*

Après ces insuccès je suis revenu à une technique plus simple, plus longue, mais qui dans le cas présent, m'a donné les meilleurs résultats.

Dans un ballon de 5 litres on met un kg. d'extrait (*) qu'on épuise à reflux par 2 litres d'ester acétique anhydre. Cet ester filtré chaud est fortement coloré en vert dans les premières reprises. Par simple refroidissement le verbénalosite cristallise abondamment. Quand il ne cristallise plus, on concentre la solution au quart environ et on la verse bouillante dans un flacon émeri amorcé avec du verbénalosite, on a une nouvelle cristallisation.

On alterne ainsi les reprises avec de l'ester acétique anhydre ou hydraté selon l'état de dureté de l'extrait, il doit être facilement divisible à la spatule (**).

Pour épuiser l'extrait il faut une vingtaine de reprises.

Le rendement moyen en verbénalosite est de 15 à 20 g. de cristaux obtenus directement sans concentration à l'acétate d'éthyle et de 40 à 45 g., par concentration, soit environ 60 g., par kg. d'extrait et 12 g., par kg. de parties aériennes sèches.

f) *Défécation au sous-acétate de plomb.*

Les liqueurs mères éthéro-acétiques sont saturées de verbénalosite, mais contiennent beaucoup d'impuretés. Afin de récupérer l'hétéroside j'ai utilisé la défécation au plomb.

Les liqueurs éthéro-acétiques sont réunies dans un ballon et concentrées à extrait sec. Cet extrait est dissous dans de l'eau chaude et la solution déféquée au sous-acétate de plomb. Après filtration, le liquide limpide est débarrassé de

(*) Pour faciliter le passage de l'extrait dans le ballon, on saupoudre la masse de carbonate de calcium et on le roule en magdaléons.

(**) On enlève le ballon du bain-marie et on agite l'extrait avec une spatule en cuivre dans une pièce voisine éloignée de toute flamme, une dizaine d'agitations pendant les deux heures de reprise sont nécessaires pour un bon épuisement.

l'excès de plomb par de l'acide sulfurique au dixième. Le sulfate de plomb enlevé par essorage, on neutralise l'acide acétique par du carbonate de calcium et l'on filtre. Les solutions claires sont concentrées dans le vide sans dépasser 50°, jusqu'à sirop clair ; après refroidissement, par agitation avec de l'éther, on enlève l'acide acétique, puis on distille à sec.

Cet extrait est épuisé par l'alcool ; les liqueurs alcooliques distillées donnent un deuxième extrait qui, traité à plusieurs reprises par l'ester acétique anhydre, fournit de belles cristallisations.

g) *Entraînement du verbénaloside à l'état de précipité plombique ammoniacal.*

En 1920, J. D. RIEDEL [98] prenait à Berlin un brevet pour l'extraction de cet hétéroside par ce procédé.

Si on se rappelle que, dès 1894, Ch. TANRET [100] extrayait le picéoside (picéine) des feuilles du *Pinus picea* par cette même méthode, qu'en 1907 C. LEFEBVRE [78] obtenait par un procédé identique le taxicatoside (taxicatine) du *Taxus baccata* L. et que l'un et l'autre ont indiqué leur technique sans songer à la faire breveter, on s'étonnera du geste de J.-D. RIEDEL, le brevet pris ne présentant aucune originalité sur la méthode utilisée en France depuis trente ans.

Voici sa technique : « on ajoute à l'extrait aqueux de 1 kg. de drogue du commerce de *Verbena officinalis* du sous-acétate de plomb tant qu'il se forme un précipité. On filtre, on lave et on précipite la verbénaline du filtrat avec de l'ammoniaque et du sous-acétate de plomb. On essore le précipité, on le lave, on le suspend dans de l'eau et on le décompose avec de l'acide sulfhydrique. On concentre dans le vide la solution de glucoside, débarrassée par filtration du sulfure de plomb et le produit sirupeux restant est à nouveau soumis à l'extraction avec de l'éther acétique chaud. Après le refroidissement des reprises éthéro-acétiques, au besoin concentrées la verbénaline cristallise ».

J'ai essayé ce procédé avec un assez bon résultat sur des extraits obtenus en distillant les solutions mères éthéro-acétiques très impures additionnées des alcools de lavage des flacons ayant servi aux cristallisations.

J'ai indiqué, à propos de la défécation magnésienne, que les bases fortes altéraient le corps lactonique qu'est le verbénaloside, l'ammoniaque employée ici ne paraît pas avoir d'action sur la lactone, c'est là d'ailleurs un fait déjà signalé.

Par ces différentes techniques, j'ai pu préparer environ douze cents grammes de verbénaloside cristallisé impur qui m'ont donné environ mille grammes de produit parfaitement pur.

Extraction du verbénaloside de l'écorce de racines de *Cornus florida* L.

En 1835, Ph. L. GEIGER [51] traitant des écorces de *Cornus florida* L., arbre américain à grandes fleurs blanches, obtient un composé amer cristallisé qu'il appelle *cornine* ou *acide cornique*. Ce corps, à réaction acide, lui paraît contenir de l'azote ; chauffé en présence d'un alcali, il donne, dit-il, des vapeurs blanches avec l'acide chlorhydrique.

Andrew G. FREY [50] l'obtient en cristaux presque blancs, mais il ne donne aucune constante physique.

Dans un mémoire paru en 1928, E. R. MILLER [82] reprend l'étude commencée par Ph. L. GEIGER. Il purifie la cornine, la décrit comme un hétéroside, et en donne des caractères physiques précis.

En 1935, Benno REICHERT, de Berlin [96], rapprochant les travaux de L. BOURDIER [7-8] parus en 1908 sur la verbénaline, glucoside extrait du *Verbena officinalis* L. et ceux de E.-R. MILLER sur la *cornine* conclut à l'identité de ces deux principes et donne la priorité du nom à la cornine de

Ph. L. GEIGER. Cette décision est très discutable, la cornine ou acide cornique de GEIGER étant un corps impur à réaction acide et contenant de l'azote, deux caractères qui n'ont été retrouvés ni dans la cornine de E.-R. MILLER, ni dans la verbénaline de L. BOURDIER. Au contraire l'hétéroside décrit par L. BOURDIER en 1908 est un corps pur à constantes physiques bien déterminées et reconnues exactes par tous ceux qui ont étudié cette substance. C'est donc le nom de verbénaline ou du moins de *verbénalosite*, suivant la nouvelle nomenclature, qu'il faut conserver.

Les deux matières premières actuellement connues pour l'extraction de ce principe sont donc la Verveine officinale en Europe et le *Cornus florida* L. en Amérique. L'écorce de cet arbre a été inscrite aux pharmacopées des Etats-Unis de 1842 [86], de 1864 et 1873 [87] ; la pharmacopée de 1880 [88] précise d'employer l'écorce de racines.

Ayant pu me procurer la drogue américaine (*), j'en ai extrait du verbénalosite que j'ai confronté au produit extrait de la Verveine officinale.

Trois cents grammes d'écorces de racine pulvérisée sont traités par de l'alcool à 65° (**), selon la technique habituellement employée.

Les liqueurs alcooliques rouge-sang sont distillées jusqu'à consistance d'extrait ferme en s'aidant du vide vers la fin de l'opération.

Extraction du verbénalosite. — L'extrait hydroalcoolique obtenu est traité à huit reprises par un litre d'éther acétique anhydre ou hydraté selon la consistance de la masse.

Ces solutions éthéro-acétiques ne cristallisent pas sur

(*) Je suis heureux de remercier M. P. C. WIRTH qui a eu l'obligeance de me fournir l'écorce de racines de *Cornus florida* L.

(**) L'emploi d'alcool de titre faible a pour but de compenser l'état de déshydratation de la drogue.

amorce de verbénaloside ni directement, ni après concentration.

Elles sont alors réunies, l'acétate d'éthyle distillé et l'extrait repris par 250 cm³. d'eau. La solution laisse un précipité abondant insoluble ; après filtration elle est rouge, de saveur astringente, très amère.

Déféquée par un dixième de sous-acétate de plomb, elle a une déviation de : $\alpha = - 2^{\circ}54'$ et réduit nettement la liqueur cupro-alcaline l'excès de ce réactif prenant une couleur vert noir.

La solution déféquée au plomb est débarrassée de l'excès de ce métal par l'acide sulfurique au dixième. Après filtration, le liquide est neutralisé par addition de carbonate de calcium, et distillé sous pression réduite. L'extrait est traité à six reprises par cent cm³. d'éther acétique anhydre. Les solutions éthéro-acétiques ne cristallisent pas directement sur amorce de verbénaloside, mais additionnées d'un égal volume d'éther sulfurique, de fins cristaux groupés en étoiles se forment rapidement sur les amorces.

Cristaux recueillis : 0g.,80.

Ces cristaux sont recristallisés dans l'alcool éthylique.

PURIFICATION

Le verbénaloside obtenu par cristallisation directe dans l'ester acétique refroidi est bien cristallisé, mais légèrement souillé de chlorophylle ; celui obtenu par concentration des liqueurs éthéro-acétiques est beaucoup plus impur, celui provenant du traitement des extraits déféqués au plomb est déjà blanc.

J'ai effectué trois recristallisations successives dans l'alcool à 95°, puis une dans l'ester acétique anhydre. Dans certains cas une cinquième recristallisation a été effectuée dans l'eau distillée.

2-3-4° cristallisations dans l'alcool. — Le verbénaloside est additionné d'un quinzième de son poids de charbon actif et de cinq fois son poids d'alcool à 95°. Après ébullition à reflux, la solution est filtrée sur un entonnoir chauffé électriquement. La cristallisation est amorcée et troublée par agitation, on obtient ainsi de petits cristaux faciles à essorer et à laver à l'alcool, beaucoup moins souillés par les impuretés restées dans les solutions mères.

5° cristallisation dans l'ester acétique anhydre. — Le verbénaloside cristallisé quatre fois est repris dans un ballon par 90 fois son poids d'acétate d'éthyle anhydre ; filtré bouillant ce liquide abandonne de beaux cristaux en aiguilles prismatiques.

6° cristallisation dans l'eau. — On dissout à chaud au bain-marie bouillant le verbénaloside dans deux fois et demi son poids d'eau distillée. La solution refroidie reste facilement sursaturée, mais cristallise très vite dès qu'on amorce par un cristal.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

Forme cristalline. — Le verbénaloside cristallisé dans l'ester acétique donne en solutions concentrées de très fines aiguilles soyeuses, en solutions plus diluées les cristaux formés sont durs, beaucoup plus larges et correspondent au dessin de la figure I.



Fig. 1. — *Verbénaloside cristallisé dans l'ester acétique.*

Ce sont des cristaux incolores, en lamelles allongées.

Les directions d'extinction entre nicols croisés sont parallèles ou perpendiculaires à la direction d'allongement; le plan des axes optiques est parallèle au plan des lamelles, ce qui indique une symétrie orthorhombique (*).

(*) Ces caractères cristallographiques m'ont été indiqués par M. WYART, maître de conférences de minéralogie à la faculté des sciences ; je le remercie vivement pour sa grande obligeance.

Ces cristaux sont inodores ; ils ont une saveur fortement amère.

Le verbénalosite cristallise anhydre.

Voici deux essais :

a) verbénalosite (6^e-cristallisation dans l'eau).

24 h. vide sulfurique.....	0 g., 7528
2 h. étuve 99°,5 puis 20 minutes dans le vide SO ₄ H ₂ .	0 g., 7533
3 h. étuve 99°,5 puis 20 minutes dans le vide SO ₄ H ₂ .	0 g., 7526
24 h. à l'air dans le laboratoire.....	0 g., 7531

Perte de poids 0,06 p. 100

b) verbénalosite (6^e cristallisation dans l'eau).

24 h. dans le vide SO ₄ H ₂	0 g., 9575
2 h. étuve 99°,5 puis 20 minutes dans le vide SO ₄ H ₂ .	0 g., 9570
3 h. étuve 99°,5 puis 20 minutes dans le vide SO ₄ H ₂ .	0 g., 9572
24 h. à l'air dans le laboratoire.....	0 g., 9571

Perte de Poids 0,05 p. 100

Il cristallise également à l'état anhydre dans d'autres solvants (ester acétique hydraté, alcool absolu ou hydraté, alcool méthylique, acétone, etc...).

Solubilités. — La solubilité à froid dans les différents solvants a été déterminée par L. BOURDIER, le corps finement pulvérisé étant agité avec le solvant, à la température du laboratoire (+ 18°).

100 gr. d'eau distillée dissolvent.....	21 gr., 119 de verbénalosite
— d'alcool absolu dissolvent	1 gr., 148 —
— d'alcool à 90° dissolvent.....	5 gr., 005 —
— d'alcool méthylique dissolvent ..	4 gr., 150 —
— d'ester acétique anhydre dissolv.	0 gr., 415 —
— d'ester acétique saturé d'eau....	1 gr., 436 —
— d'acétone dissolvent	0 gr., 912 —
— d'acide acétique cristallisable....	9 gr., 570 (CHEYMOL)

On peut exprimer ces résultats sous la forme suivante :

1 g. de verbénalosite est soluble à + 18° dans :

4 gr., 73 d'eau distillée
 87 gr., 10 d'alcool absolu
 19 gr., 98 d'alcool à 90°
 24 gr., 09 d'alcool méthylique
 240 gr., 96 d'ester acétique anhydre
 69 gr., 63 d'ester acétique saturé d'eau
 109 gr., 64 d'acétone
 10 gr., 44 d'acide acétique cristallisable

Il est insoluble dans l'éther ordinaire et le chloroforme.

Point de fusion.

a/ verbénaloside

+ 181°,56 (corrigé) L. BOURDIER
 + 178° A. HOLSTE
 + 179°, + 180° J. D. RIEDEL
 + 180°, + 180°,5 (bloc de MAQUENNE,
 point de fusion instantané) J. CHEYMOL.

b/ cornine

si on chauffe rapidement à peu près jusqu'à + 175°, puis lentement il fond nettement à + 180° E. R. MILLER, + 181° B. REICHERT.

Pouvoir rotatoire. — Le verbénaloside en solution aqueuse est lévogyre.

Son pouvoir rotatoire est de :

1. — $[\alpha]_D = -180^{\circ},32$ (p. = 0 gr. 3050, v = 15 cm ³ , l = 2, $\alpha = -7^{\circ},333$)	} L. BOURDIER
2. — $[\alpha]_D = -180^{\circ},97$ (p. = 2 gr. 0445, v = 100 cm ³ , l = 2, $\alpha = -7^{\circ},4$)	
3. — $[\alpha]_D = -180^{\circ},27$ (p. = 0 gr. 9985, v = 100 cm ³ , l = 2, $\alpha = -3^{\circ},6$)	
4. — $[\alpha]_D = -180^{\circ},72$ (p. = 1 gr. 0040, v = 100 cm ³ , l = 2, $\alpha = -3^{\circ}37'$)	} J. CHEYMOL
5. — $[\alpha]_D = -180^{\circ},80$ (p. = 1 gr. 0000, v = 100 cm ³ , l = 2, $\alpha = -3^{\circ}37'$)	
6. — $[\alpha]_D^{22} = -180^{\circ},44$ (p. = 2 gr. 5308, v = 200 cm ³ , l = 2, $\alpha = -4^{\circ}34'$)	
7. — $[\alpha]_D^{24} = -180^{\circ},83$ (p. = 1 gr. 0000, v = 100 cm ³ , l = 2, $\alpha = -3^{\circ}37'$)	

soit en moyenne $[\alpha]_D = -180^{\circ},62$

Les déterminations ont été effectuées sur des produits provenant de cristallisations différentes, la 4^e sur du

verbénaloside 5 fois cristallisé, les trois dernières sur des corps recristallisés une sixième fois dans l'eau.

Pouvoir rotatoire de la cornine (E.-R. MILLER).

$$\begin{cases} [\alpha]_D^{25} = -180^{\circ},6 \text{ (p. = 3 gr. v = 27 cm}^3, l = 1, \alpha = 18^{\circ}64) \\ [\alpha]_D^{25} = -181^{\circ},4 \text{ (p. = 10 gr. v = 100 cm}^3, l = 2, 2, \alpha = 41^{\circ}2) \end{cases}$$

J'ai déterminé le pouvoir rotatoire dans différents solvants. Ce caractère a été recherché pour la raie D du sodium en utilisant un tube de deux décimètres. Les valeurs trouvées sont réunies dans le tableau suivant :

Pouvoir rotatoire du verbénaloside dans différents solvants.

Solvant	P. en g.	v en cm ³ .	α	T. en degrés C.	$[\alpha]_D$
Eau distillée.....	1,0000	100	— 3°37'	24	— 180°,83
Alcool absolu.....	0,2018	20	— 3°32'	21	— 175°,07
Alcool à 90c.....	0,2016	20	— 3°34'	19	— 176°,88
Acétate d'éthyle saturé d'eau ..	0,1840	100	— 39'	22	— 176°,63
Acétone	0,2026	50	— 1°21'	20	— 166°,58
Alcool méthylique....	1,0019	50	— 6°46'	21	— 168°,75
Acide acétique.....	0,0934	10	— 3°	20	— 160°,59

P = poids du verbénaloside en solution dans v cm³.

α = rotation observée à τ : température du tube.

Ces déterminations ont été faites sur du verbénaloside de 6^e cristallisation (une dans l'ester acétique hydraté, trois dans l'alcool à 95^c, une dans l'ester acétique anhydre, une dans l'eau), en employant des solvants vérifiés sans activité sur la lumière polarisée et d'une pureté aussi grande que possible ; eau bidistillée, acétone régénérée de sa combinaison bisulfite, acide acétique cristallisable, méthanol exempt d'acétone...etc...

Dispersion rotatoire. — J'ai déterminé la dispersion rotatoire en solution aqueuse utilisant un polarimètre de JOBIN et YVON, un monochromateur de BRUHAT, un arc à

mercure de GALLOIS et une lampe à vapeur de sodium de REICHERT.

Solvant : eau	p = 1 g., 0000	, v = 100 cm ³ .
	l = 2 cm	, t = 24°
λ en $m \mu$:	589	579 546 (*)
α :	— 3°,61 —	3°,77 — 4°,31
$[\alpha]_{\lambda}^{20}$:	— 180°,50 —	188°,50 — 215°,50

Spectre d'absorption dans l'ultra-violet.

Voir l'étude de ce spectre p. : 40 et fig. : 2 et à propos de l'étude de la constitution du verbénaloside p. : 108 et fig. : 6.

Résistance à la chaleur en solution aqueuse.

Une solution de verbénaloside à 2 g. pour 100 cm³. est mise en ampoules de verre neutre. Certaines de ces ampoules sont chauffées à 100° au bain-marie bouillant, d'autres à 120° et à 130° à l'autoclave, toutes sont maintenues pendant trente minutes à ces températures.

Après refroidissement, les déviations polarimétriques observées ont été :

avant chauffage	$\alpha =$ — 7°13'
après 30 minutes à + 100°	$\alpha =$ — 7°13'
— — — à + 120°	$\alpha =$ — 7°11'
— — — à + 130°	$\alpha =$ — 7°13'

Le chauffage des solutions aqueuses de verbénaloside n'altère donc pas ce corps.

Poids moléculaire.

Le poids moléculaire a été déterminé par voie physique et par voie chimique.

I. — *Par cryoscopie dans l'eau.*

1°) *verbénaloside.*

a) BOURDIER	verbénaloside.....	1 g., 052
	eau distillée.....	24 g., 29
	teneur pour 100.....	4 ., 331
	Δ	0° , 21

(*) La visibilité pour le bleu ($\lambda = 404$) étant $\lambda = 435$) et l'indigo) médiocre, je n'ai pas tenu compte des chiffres imprécis trouvés.

$$P. M. : 18,5 \times \frac{4,331}{0,21} = 381$$

b) BOURDIER	verbénaloside.....	1 g., 039
	eau distillée.....	24 g., 29
	teneur pour 100.....	4 „, 227
	Δ	0° „, 205

$$P. M. : 18,5 \times \frac{4,277}{0,205} = 385,9$$

c) CHEYMOL	verbénaloside.....	2 g., 4830
	eau distillée.....	48 g., 1944
	teneur p. 100.....	5 „, 1313
	Δ (pris au thermomètre différentiel de BECKMANN).....	0° „, 24

$$P. M. : 18,5 \times \frac{5,1313}{0,24} = 395,33$$

d) CHEYMOL	verbénaloside.....	2 g., 5308
	eau distillée.....	48 g., 0232
	teneur pour 100.....	5 „, 2698
	Δ (pris au thermomètre différentiel de BECKMANN).....	0° „, 26

$$P. M. : 18,5 \times \frac{5,2698}{0,26} = 374,95$$

soit en moyenne : **384,34.**

2°) *cornine* (E.-R. MILLER)

a)	0 g., 2245 dissous dans 21,863 g., d'eau.
	$\Delta = 0^{\circ},054$

$$P. M. : \frac{Kg.}{G \Delta} = \frac{1880 \times 0,2245}{21,863 \times 0,054} = 357$$

b)	0 g., 3513 dissous dans 21,863 g. d'eau.
	$\Delta = 0^{\circ},08$

$$P. M. : = \frac{1880 \times 0,3513}{21,863 \times 0,08} = 377$$

II. — *Par voie chimique.* — Le dosage des méthoxy par la méthode de ZEISEL (*) permet de calculer le poids moléculaire du verbénaloside.

(*) V. p. : 34.

prise d'essai.....	0 g., 3043
I Ag.....	0 g., 2028
— OCH ₃ pour.....	8 „ 82
P. M.....	351

**

Identification de l'hétéroside extrait du *Cornus florida* L

Sur la petite quantité de l'hétéroside cristallisé retiré de l'écorce sèche de racines de *Cornus florida* L. (*), j'ai fait les essais suivants.

Sur le produit de première extraction une solution de
cristaux 0 g., 10
eau distillée q. s. p. 10 cm³.
de coloration légèrement jaune et de saveur amère, indique
un pouvoir rotatoire de :

$$[\alpha]_D = -163^{\circ},33 \quad (\alpha = -3^{\circ}16', l = 2, p = 0 \text{ g.}, 10, v = 10 \text{ cm}^3)$$

Pouvoir réducteur : 1 g., de corps cristallisé réduit comme
0 g., 717 de glucose, l'excès de liqueur cupro-alcaline étant
coloré en vert noir.

Après recristallisation dans l'alcool à 95°, ces cristaux
montrent les caractères suivants :

$$1. \text{ — } [\alpha]_D^{22^{\circ}} = -180^{\circ} \quad (\alpha = -3^{\circ}36', l = 2, p = 0 \text{ g.}, 10, v = 10 \text{ cm}^3, t = 22^{\circ}).$$

2. — 1 g. réduit comme 0 g., 890 de glucose.

3. — Point de fusion : + 179° (point de fusion instantané
au bloc MAQUENNE).

A noter que le mélange de l'hétéroside recristallisé obtenu à partir du *Cornus florida* L. et le verbénaloside pur fond également à + 179°, + 180° comme ces deux produits séparés.

Sans aucun doute, comme l'a indiqué Benno REICHERT [96] en 1935, il s'agit de verbénaloside contenant encore ici une trace d'impureté.

(*) V. p. : 18.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES [41]

Réactions colorées.

Cet hétéroside donne avec certains réactifs des colorations intéressantes. On ne peut attacher un caractère de grande spécificité aux réactions colorées obtenues en additionnant un hétéroside ou un alcaloïde d'acides concentrés, mais elles peuvent parfois jouer un rôle d'identification utile.

Avec l'acide azotique pur, on obtient une coloration jaune d'or.

L'acide sulfurique pur, additionné d'un gramme pour cent de molybdate d'ammonium (réactif de FRÖHDE) donne des stries violacées avec des cristaux de verbénaloside, puis la teinte verdit, gagne toute la goutte pour devenir vert émeraude après quelques minutes.

Coloration jaune orangée avec le réactif de WASICKY, obtenu en dissolvant deux grammes de paraamino-diméthylbenzaldéhyde dans six grammes d'acide sulfurique pur et en ajoutant 0 cm³, 4 d'eau.

Le verbénaloside dissous dans l'acide acétique cristallisable et additionné d'une solution de brome dans ce même solvant donne une coloration vert émeraude très stable (*).

Analyse élémentaire et composition centésimale.

Le verbénaloside, chauffé sur une lame de platine, fond, charbonne, brûle sans résidu. La recherche de l'azote, du soufre et du phosphore est négative. C'est un corps ternaire.

(*) V. p. : 39. Cette réaction nous a servi à rechercher les doubles liaisons.

Composition centésimale.

	I (*)	II	III	IV	V	VI
Poids de						
substance :	0 g. 183	0 g. 2008	0 g. 2072	0 g. 2113	4 mg. 515	4 mg. 000
O ₂ C :	0 g. 3514	0 g. 3865	0 g. 3985	0 g. 4042	8 mg. 830	7 mg. 85
O H ₂ :	0 g. 1029	0 g. 1150	0 g. 1145	0 g. 1185	2 mg. 645	2 mg. 245

d'où en centièmes :

	I	II	III	IV	V	VI
C p. 100 :	52,36	52,49	52,45	52,17	53,33	53,50
H p. 100 :	6,24	6,36	6,14	6,23	6,55	6,82

Les résultats trouvés par L. BOURDIER l'avaient conduit à proposer pour le verbénaloside la formule brute C₁₇ H₂₅ O₁₀. Cette formule semble devoir être remplacée par C₁₇ H₂₄ O₁₀ car il est très rare qu'une molécule ne renfermant pas d'azote n'ait pas un nombre pair d'atomes d'hydrogène, de plus elle se rapproche davantage des chiffres trouvés.

Calculé pour

Trouvé pour le verbénaloside.

	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	I (*)	II	III	IV	V	VI
Poids							
moléculaire :	388	381	385,7			395,5	374,9
C. p. 100 :	52,57	52,36	52,49	52,45	52,17	53,33	53,50
H. p. 100 :	6,18	6,24	6,36	6,14	6,23	6,55	6,82

Voici les résultats des analyses trouvées par E. R. MILLER pour la cornine (analyses n° I à XV) et B. REICHERT pour le verbénaloside (XVI et XVII).

	I	II	III	IV	V	VI
Poids de						
substance :	0 g. 2410	0 g. 1688	0 g. 2653	0 g. 2530	0 g. 2219	0 g. 1871
O ₂ C :	0 g. 4685	0 g. 3238	0 g. 5070	0 g. 4884	0 g. 4297	0 g. 3662
O H ₂ :	0 g. 1334	0 g. 0904	0 g. 1442	0 g. 1433	0 g. 1237	0 g. 1014

	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Poids de						
substance :	0 g. 1961	0 g. 2478	0 g. 2038	0 g. 2684	0 g. 1930	0 g. 1456
O ₂ C :	0 g. 3785	0 g. 4790	0 g. 3880	0 g. 5148	0 g. 3695	0 g. 2806
O H ₂ :	0 g. 1088	0 g. 1295	0 g. 1317	0 g. 1592	0 g. 1064	0 g. 0886

(*) Les résultats des analyses 1, 2, 3, 4, ont été donnés par L. BOURDIER en 1908.

	XIII	XIV	XV	XVI	XVII
Poids de					
substance :	0 g. 3824	0 g. 2086	0 g. 2545	0 g. 1298	0 g. 1217
O ₂ C :	0 g. 7248	0 g. 4027	0 g. 4838	0 g. 2506	0 g. 2344
O H ₂ :	0 g. 2096	0 g. 1212	0 g. 1402	0 g. 0716	0 g. 0683

D'où en centièmes.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
C p. 100 :	53,13	52,31	52,11	52,64	52,81	53,08	52,64	52,71
H p. 100 :	6,15	5,95	6,04	6,29	6,19	6,02	6,16	5,18

	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII
C p. 100 :	51,92	52,31	52,21	52,55	51,69	52,64	51,84	52,65	52,53
H p. 100 :	7,18	6,59	6,12	6,76	6,09	6,45	6,12	6,20	6,28

Calculé pour C₁₇ H₂₄ O₁₀

C p. 100 : 52,57

H p. 100 : 6,18

Tous ces résultats confirment la formule C₁₇ H₂₄ O₁₀

Le verbénaloside ne précipite pas par l'acétate neutre de plomb. (RÉACTIF DE COURTONNE).

La solution

verbénaloside (5^e cristallisation) 2 g., 49

eau distillée q. s. p. 250 cm³.

a une déviation $\alpha = - 3^{\circ}36'$, soit un $[\alpha]_D = - 180^{\circ},72$

et un pouvoir réducteur de 100 cm³. = 0 g., 869 de glucose.

Cette solution additionnée d'un dixième de réactif de COURTONNE reste parfaitement limpide.

Dix minutes après la solution, un essai donne :

$\alpha = - 3^{\circ}16'$ soit en tenant compte de la dilution $[\alpha]_D = - 180^{\circ},37$. 100 cm³. réduisent comme 0 g., 883 de glucose.

48 heures après, un deuxième essai indique :

$\alpha = - 3^{\circ}16'$ soit en tenant compte de la dilution $[\alpha]_D = - 180^{\circ},37$.

Donc l'acétate neutre de plomb n'a pas d'action sur le pouvoir rotatoire et le pouvoir réducteur du verbénaloside.

Action du sous-acétate de plomb.

La solution

verbénaloside (5° crist.)	1 gr.,0015
eau distillée q. s. p.	100 cm3.

a une déviation de $\alpha = -3^{\circ},37'$, soit un $[\alpha]_D = -180^{\circ},52$ et un pouvoir réducteur de 100 cm3. = 0 g.,907 de glucose.

Additionné d'un dixième de son volume de sous-acétate de plomb, le liquide trouble légèrement même en utilisant de la verrerie lavée à l'eau distillée.

15 minutes après, on a $\alpha = -3^{\circ}16'$ soit en rapportant au liquide non dilué $\alpha = -3^{\circ}35'$ le pouvoir réducteur rapporté aux 100 cm3. primitifs est devenu égal à 0 g., 880 de glucose. 24 heures après, le trouble s'est accentué légèrement ; on ajoute un dixième du volume de solution saturée de sulfate de sodium, la déviation est devenue (chiffre rapporté au liquide non dilué) $\alpha = -3^{\circ}33'$ et le pouvoir réducteur 100 cm3. = 0 g., 845 de glucose.

L'addition de sous-acétate de plomb à une solution de verbénaloside dans la proportion d'un dixième du volume entraîne une légère diminution du pouvoir réducteur et du pouvoir rotatoire ().*

Ces modifications s'accroissent avec le temps de contact.

Action du sous-acétate de plomb et de l'ammoniaque.

Une solution

verbénaloside	1 g., 0015
eau distillée q. s. p.	100 cm3.

présente les caractères suivants :

$\alpha = -3^{\circ}37'$ et 100 cm3. réduisent comme 0 g.,907 de glucose.

(*) L. BOURDIER avait trouvé que l'addition de sous-acétate de plomb ne précipite pas le verbénaloside.

L'action du sous-acétate de plomb sur le verbénalol, produit d'hydrolyse du verbénaloside, entraîne un changement de rotation de la gauche vers la droite et le pouvoir réducteur du liquide filtré diminue. Ces modifications augmentent avec la durée du temps de contact v. p. : modifications augmentent avec la durée du temps de contact v. p. : 72.

Additionnée d'un dixième de son volume de sous-acétate de plomb elle donne (chiffres rapportés au liquide non déféqué) :

15 minutes après $\alpha = - 3^{\circ}35'$, 100 cm³. réduisent comme 0 g., 880 de glucose,

24 heures après $\alpha = - 3^{\circ}33'$, 100 cm³. réduisent comme 0 g., 845 de glucose.

La solution est alors additionnée d'un dixième de son volume d'ammoniaque, il se forme un abondant précipité.

24 heures après, on filtre et l'on obtient :

a) *Un filtrat* donnant : $\alpha = - 18'$, 100 cm³. réduisent comme 0g., 0193 de glucose (chiffres rapportés au liquide primitif).

Le filtrat ne contient plus que des traces de verbénalosite.

b) *Un précipité*. Ce précipité est mis en suspension dans 40 cm³. d'eau avec le filtre coupé en morceaux, puis additionné d'acide sulfurique jusqu'à légère acidité. On complète au volume primitif du liquide dans lequel on a ajouté l'ammoniaque. Le liquide est filtré, additionné de carbonate de calcium pour enlever l'acidité libre. Le liquide filtré et limpide donne les résultats suivants :

$\alpha = - 2^{\circ}52'$, soit ramené au liquide primitif par calcul

$\alpha = - 3^{\circ}27'$.

Le pouvoir réducteur ramené aux 100 cm³. primitifs est égal à 0 g., 903 de glucose.

Donc le précipité contient pratiquement tout le verbénalosite ()*.

Recherche des groupements fonctionnels.

La molécule du verbénalosite renferme :

Une fonction méthoxylée.

(*) J. D. RIEDEL a utilisé cet entraînement du verbénalosite par le précipité plombique ammoniacal pour l'extraction de ce corps v. p. : 17.

La méthode de ZEISEL permet de doser les —O—CH_3 existant dans la molécule.

Elle repose sur les deux équations suivantes :



Les résultats analytiques ont été :

Verbénaloside.

1. — 0 g., 3043 verbénaloside $\longrightarrow$ 0 g., 2028 IAg soit 8,82 p. 100 de O—CH_3 (CHEYMOL).
2. — 0 g., 1464 verbénaloside $\longrightarrow$ 0 g., 0923 IAg soit 8,3 p. 100 de O—CH_3 (REICHERT).
3. — 0 g., 1484 verbénaloside $\longrightarrow$ 0 g., 0886 IAg soit 7,9 p. 100 de O—CH_3 (REICHERT).

Cornine.

4. — 0 g., 2752 cornine $\longrightarrow$ 0 g., 1524 IAg soit 7,33 p. 100 de O—CH_3 (E. R. MILLER).
5. — 0 g., 2429 cornine $\longrightarrow$ 0 g., 1404 IAg soit 7,63 p. 100 de O—CH_3 (E. R. MILLER).
6. — 0 g., 2966 cornine $\longrightarrow$ 0 g., 1708 IAg soit 7,59 p. 100 de O—CH_3 (E. R. MILLER).
7. — 0 g., 5401 cornine $\longrightarrow$ 0 g., 3256 IAg soit 7,95 p. 100 de O—CH_3 (E. R. MILLER).
8. — 0 g., 5751 cornine $\longrightarrow$ 0 g., 3481 IAg soit 7,98 p. 100 de O—CH_3 (E. R. MILLER).

La formule $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_9$ (—O—CH_3) nécessite 7,98 p. 100 de —O—CH_3 . Il y a donc un méthoxy dans la molécule du verbénaloside.

Une fonction lactone.

Le verbénaloside se comporte comme une lactone s'hydratant progressivement sous l'action d'un alcali pour donner un acide.

La solution aqueuse du verbénaloside est neutre au tournesol et à la phthaléine, mais, si on ajoute une quantité insuffisante d'alcali pour former le sel de l'acide verbénalosidique, la réaction d'abord alcaline devient progressivement neutre. En même temps la saveur très amère du verbénaloside disparaît.

Les corps obtenus sont les sels de l'acide verbénalosidique $C_{17}H_{26}O_{11}$.

L'étude de ce corps et de ses sels fait l'objet d'un chapitre spécial (*). ;

Une fonction aldéhyde ou cétone.

I. — Réactions communes à ces deux fonctions.

Le verbénaloside ne donne pas de réaction apparente avec le bisulfite de sodium.

Réaction de Legal. — Quatre cm³. d'une solution de verbénaloside au trentième, additionnés de cinq gouttes d'une solution récente de nitroprussiate de sodium au dixième, puis de trois gouttes de lessive de soude, et recevant dix gouttes d'acide acétique donnent une coloration rouge. Cette coloration est semblable à celle obtenue à partir de l'acétone dans les mêmes conditions, mais alors que la réaction de cette dernière abandonnée 24 heures s'est en partie décolorée, le tube contenant le verbénaloside devient d'un beau vert émeraude.

Or DENIGÈS a montré que cette réaction n'appartient pas aux fonctions aldéhyde ou cétone, des aldéhydes comme le formol, l'aldéhyde benzoïque, le chloral, des cétones comme la diphénylcétone ne la donnent pas. Cette réaction caractérise le groupe $—CH_2—CO—$, à condition que la valence du carbonyle soit saturée par l'hydrogène ou par un radical hydrocarboné gras ou aromatique. La coloration obtenue est rouge quand ce radical appartient à la série grasse, bleue quand il provient de la série cyclique.

La réaction étant rouge, la fonction $—CH_2—CO$ doit être dans une chaîne latérale, le $—CO—$ n'étant pas immédiatement à côté du noyau aromatique.

Phénylhydrazine.

En ajoutant à une solution aqueuse saturée de verbéna-

(*) V. p. : 89.

loside, une solution au cinquième d'acétate de phénylhydrazine, L. BOURDIER obtient la formation d'une combinaison insoluble de couleur rouge qui se montre (dit BOURDIER) au microscope sous la forme de sphéro-cristaux de très petites dimensions.

Les essais que j'ai effectués, soit à froid, soit en portant le mélange trois minutes à l'ébullition, puis en refroidissant dans la glace, ne m'ont jamais donné qu'un produit rouge d'aspect colloïdal noircissant sur le filtre.

Ce corps se dissout en rouge dans l'acétone.

Des expériences effectuées avec la 2-4- dinitrophénylhydrazine ont donné une hydrazone jaune qui, malgré de nombreux essais, n'a pas cristallisé.

Hydroxylamine.

L. BOURDIER a montré qu'en ajoutant à une solution

verbénaloside	2 g., 50
eau distillée	12 cm ³ .

2g., d'hydroxylamine et 1g.,20 de soude caustique, il se formait après quelques heures un composé cristallisé.

Les cristaux recueillis, lavés à l'eau et séchés, noircissent et se décomposent vers + 155° sans fondre.

Ce corps est insoluble dans l'eau (*).

Semi-carbazide.

Des essais effectués à froid sur des solutions de verbénaloside avec du chlorhydrate de semi-carbazide en présence d'acétate de sodium n'ont donné aucune combinaison apparente.

Réactions caractéristiques des aldéhydes.

2 cm³. d'une solution de verbénaloside au vingtième ne recolorent pas 2 cm³. de réactif de SCHIFF auxquels on les mélange.

(*) V. étude détaillée p. : 98.

Nitrate d'argent ammoniacal.

Une solution de verbénaloside au vingtième additionnée d'un égal volume de nitrate d'argent ammoniacal réduit ce réactif à froid. Un miroir d'argent se dépose sur les parois du tube.

Réactif de Nessler.

Si, à 5 cm³. de réactif de NESSLER, on ajoute une goutte d'une solution de verbénaloside au dixième, l'iodomercure de potassium en milieu alcalin est réduit en un précipité jaune dans lequel après quelques minutes apparaissent des grains noirs de mercure réduit.

Liqueur cupro-alcaline.

Le verbénaloside réduit la liqueur cupro-potassique à chaud. C'est l'hétéroside naturel le plus réducteur actuellement connu (*).

Le pouvoir réducteur est déterminé par la méthode de MOHR, BERTRAND [3], [83].

— 40 mg., de verbénaloside précipitent une quantité d'oxyde cuivreux correspondant à 70 mg.,59 de cuivre comme le feraient 36 mg., 25 de glucose.

— 39 mg.,9 de verbénaloside précipitent une quantité d'oxyde cuivreux correspondant à 70 mg.,59 de cuivre comme le feraient 36 mg.,25 de glucose.

— 40 mg., de verbénaloside précipitent une quantité d'oxyde cuivreux correspondant à 70 mg.,59 de cuivre comme le feraient 36 mg.,25 de glucose.

Ces 3 essais ont été faits sur 3 échantillons de verbénaloside différents.

(*) M. BRIDEL et C. BOURDOUIL en 1930 ont découvert, dans les feuilles et les rameaux frais de l'arbousier, un hétéroside très réducteur l'unédoside [31] dont 1 gr. réduit comme 0 g., 853 de glucose

D'autres hétérosides comme l'arbutoside, donnent naissance, par hydrolyse, non seulement à du glucose, mais à des produits réducteurs non glucidiques.

Donc 1 g. de verbénaloside réduit comme 0 g.,906 de glucose (*).

L. BOURDIER avait trouvé les résultats suivants :

I. — 0 g.,0270 de verbénaloside réduisent comme 0 g.,0236 de glucose.

II. — 0 g.,0409 de verbénaloside réduisent comme 0 g.,0357 de glucose.

III. — 0 g.,0580 de verbénaloside réduisent comme 0 g.,0508 de glucose.

Si on rapporte ces résultats à 1 g. de verbénaloside, on voit que :

I. — 1 g., de verbénaloside réduit comme 0 g.,8740 de glucose.

II. — 1 g., de verbénaloside réduit comme 0 g.,8750 de glucose.

III. — 1 g., de verbénaloside réduit comme 0 g.,8758 de glucose.

Réactions caractéristiques des cétones.

Le réactif de DENIGÈS au sulfate de mercure additionné de quelques gouttes d'une solution de verbénaloside à 1 p. 100, donne à froid, et plus rapidement à chaud, une coloration jaune, puis rouge, enfin un précipité rouge. Le précipité formé à chaud d'abord rouge devient micacé à reflets métalliques.

Le réactif de BOUGAULT et GROS [5] est réduit à froid par l'addition de quelques gouttes de solution de verbénaloside.

Action de l'iode en milieu alcalin. — Une solution aqueuse de verbénaloside additionnée de carbonate de sodium, puis, goutte à goutte, d'une solution iodo-iodurée, donne une odeur nette d'iodoforme.

(*) On verra p. : 145 que le pouvoir réducteur du verbénaloside, contrairement à un de ses produits d'hydrolyse, n'augmente pas sensiblement avec la concentration de ces solutions.

Ces réactions paraissent indiquer la présence d'une fonction cétone dans une chaîne latérale, le —CO— n'étant pas immédiatement à côté du noyau.

Hydroverbénaloside. — Traité par l'hydrogène à froid en présence du nickel RANEY en milieu rendu très légèrement alcalin par la soude (technique de M. DELÉPINE et A. HOREAU [46-47], le verbénaloside fixe quatre hydrogènes pour donner un corps cristallisé à saveur amère, l'hydroverbénaloside répondant à la formule $C_{47} H_{28} O_{10}$.

Le tétrahydroverbénaloside n'est plus réducteur et ne donne plus la réaction de LEGAL.

Son étude fait l'objet d'un chapitre spécial (*).

Double liaison.

I. — Réaction de BAEYER.

La solution suivante :

verbénaloside	0 g., 05
eau distillée	5 cm ³ .
bicarbonate de sodium.....	0 g., 10

additionnée d'une solution étendue de permanganate de potassium prend aussitôt une coloration marron et donne un précipité d'hydroxyde de manganèse.

2. — Une solution de 0 g.,10 de verbénaloside dans 10 cm³. d'acide acétique, additionnée de quelques gouttes d'une solution de brome dans l'acide acétique, se décolore après l'addition des premières gouttes. Si on prolonge ces additions, après quelques minutes il se produit une couleur vert émeraude.

3. — Des cristaux de verbénaloside, mis en suspension dans le tétrachlorure de carbone, et additionnés d'une solution de brome dans le même solvant, entraînent une décoloration de la première goutte, après agitation, puis les cristaux se colorent en vert émeraude.

(*) V. p. : 83.

Etude du spectre d'absorption dans l'ultra-violet ().*

Ces déterminations sont faites en solution dans l'alcool à 95° à la concentration N/100 et N/200. Les résultats sont représentés par des courbes tracées en portant en abcis-

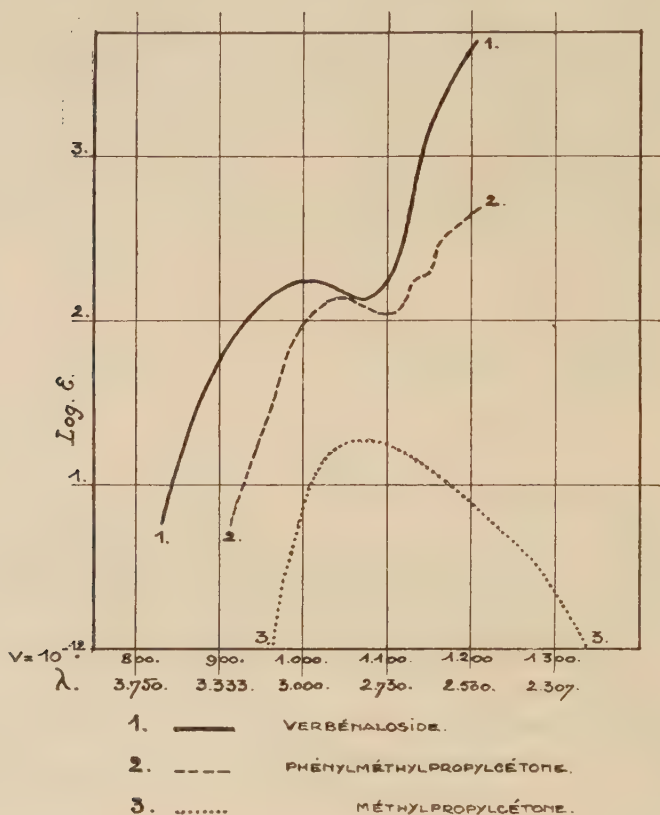


Fig. 2. — Spectres d'absorption dans l'ultra-violet du verbénaloside, de la phénylméthylpropylcétone et de la méthylpropylcétone.

ses la longueur d'onde et en ordonnées le logarithme du coefficient d'absorption.

(*) Spectres déterminés dans le laboratoire de Madame RAMART-LUCAS.

On retrouve dans cette courbe la présence d'une fonction cétone (*).

Cette fonction cétone ne serait pas sur le noyau, la comparaison de la courbe du verbénaloside avec celle de l'acétophénone montre très nettement cette dissemblance. Par contre, il y a une ressemblance nette entre les courbes du verbénaloside et celle de la phénylméthylpropylcétone ($C_6H_5-CH_2-CO-CH_2-CH_3$). Il ne semble pas que le $-CO-$ soit plus loin qu'en β par rapport au noyau. Ceci est à rapprocher du fait que la réaction de LEGAL est rouge avec le verbénaloside, v. fig. : 2.

(*) Les cétones et aldéhydes possèdent la fonction $\begin{array}{c} -C- \\ || \\ O \end{array}$ qui donne une bande très nette comprise entre $\lambda = 2820 \text{ \AA}$ et $\lambda = 2700 \text{ \AA}$.

CHAPITRE II

HYDROLYSES :

par l'émulsine,
par l'acide sulfurique.

ÉTUDE DES PRODUITS D'HYDROLYSE :

Sucre : glucose,
Aglucone : verbénalol.

HYDROLYSE DU VERBÉNALOSIDE

I. — Hydrolyse par l'émulsine.

Une solution

verbénalosite (5° cristal.)	1 g.,
eau distillée q. s. p.	100 cm ³ .

a une déviation de $\alpha = - 3^{\circ}36'$ et un pouvoir réducteur de (100 cm³. = 0 g., 906 de glucose). Elle est additionnée de 0 g.,50 d'émulsine et de dix gouttes de toluène. Le flacon bouché au liège et paraffiné est placé à l'étuve à 33°, on l'agite plusieurs fois par jour.

La déviation passe à droite et le pouvoir réducteur augmente très légèrement. Après quinze jours ces valeurs ne varient plus, elles sont :

$\alpha = + 12'$ et 100 cm³. réduisent comme 0 g.,9537.

Le liquide a jauni et l'émulsine est devenue noire.

Additionnée de quelques gouttes de perchlorure de fer au dixième, la liqueur se colore en lie de vin.

Si on épuise à plusieurs reprises la liqueur d'hydrolyse avec de l'éther, après une agitation prolongée le liquide aqueux ne se colore plus par addition de perchlorure de fer. La déviation est devenue $+ 26'$ et le pouvoir réducteur a diminué presque de moitié (100 cm³. réduisent comme 0g.,5010 de glucose).

La solution étherée évaporée abandonne l'aglucone que j'ai pu obtenir cristallisée. Ce corps a été appelé *verbénalol*, il est peu soluble dans l'eau, très soluble dans l'éther et l'acide acétique cristallisable.

C'est un corps réducteur (1 g. réduit comme 0 g.,9338 de glucose), il est lévogyre ($[\alpha]_D = -29^\circ$), avec le perchlore de fer dilué il donne une coloration lie de vin. (*).

La solution aqueuse épuisée par l'éther contient la partie sucrée de la molécule.

Sucre d'hydrolyse par l'émulsine

EXTRACTION. — L. BOURDIER extrait le sucre des liqueurs d'hydrolyse par l'émulsine provenant de 10 gr. de verbénaloside, après épuisement par l'éther, de la façon suivante : il distille à sec sous pression réduite, puis reprend le résidu par :

1/ 32 cm³. d'alcool absolu + 1 cm³. d'eau distillée,

2/ 31 cm³. d'alcool absolu + 1 cm³. d'eau distillée.

Les liqueurs filtrées bouillantes dans les flacons cristallisent sur amorce de glucose *d*.

Pour la reprise du sucre, j'ai utilisé une technique souvent employée par M. H. HÉRISSEY [61]. L'extrait contenu dans le ballon est additionné de 10 cm³. d'eau, placé au bain-marie et agité ; au bout de quelques minutes on verse par le haut du réfrigérant par petites portions 90 cm³. d'alcool absolu de façon à avoir pour terminer de l'alcool titrant 90-91°.

Après cristallisation, les cristaux obtenus sont essorés sur un entonnoir de BUCHNER, lavés avec un peu d'alcool à 95°, puis à l'éther, et séché à l'air.

Ces cristaux sont soumis à une recristallisation en utilisant la technique déjà citée (addition d'eau puis d'alcool fort) en présence d'une petite quantité de noir activé ; on maintient l'ébullition vingt minutes et l'on filtre bouillant.

Identification. — Ces cristaux ont été identifiés par L. BOURDIER à du glucose *d*, par leur point de fusion, leur pouvoir rotatoire et la mutarotation. J'ai refait ces essais et

(*) V. p. 58 l'étude détaillée du verbénalol.

les ai complétés par la recherche du poids moléculaire, du pouvoir réducteur, la caractérisation de cet ose à l'état de glucosazone et de méthylglucoside β .

Le sucre examiné donne la réaction des hexoses suivante: 2 à 3 cm³. d'acide chlorhydrique concentré additionnés de quelques milligrammes d'orcinol, puis de quelques cristaux de sucre, donnent par chauffage modéré à 40-50°, une coloration rouge orangée caractéristique des hexoses et des méthylpentoses [1] [4].

POINT DE FUSION. — Les cristaux obtenus par L. BOURDIER fondent à + 144°5 (corr.). Les miens fondent au bloc MAQUENNE à + 146°2 (point de fusion instantanée) identique à celui du glucose *d* et au mélange obtenu avec le corps examiné et du glucose *d* pur.

POIDS MOLÉCULAIRE — obtenu par cryoscopie dans l'eau en utilisant un thermomètre différentiel de BECKMANN.

Sucre: 2^e cristallisation dans l'alcool à 90°, 48 h. vide en présence d'anhydride phosphorique.

Sucre	2 gr., 5234
Eau distillée	48 gr., 8834
Δ	0,53
Teneur p. 100.	5,1620

$$P. M = \frac{18,5 \times 5,1620}{0,53} = 180,1826$$

Or le poids moléculaire du glucose *d* et autres hexoses est 180,126.

POUVOIR ROTATOIRE en solution aqueuse.

L. BOURDIER. (p. = 0 g., 3052, v = 15 cm³, l = 2)

multirotation descendante :

immédiatement après filtration $\alpha = + 4^{\circ}8'$ soit un $[\alpha] = + 101^{\circ},56$

puis après 16 h. $\alpha = + 2^{\circ}6'$ soit un $[\alpha]_D = + 51^{\circ},6$

J'ai trouvé (p = 1 g., 0005, v = 50 cm³, l = 2, t = 19°)

multirotation descendante :

immédiatement après filtration $\alpha = + 3^{\circ}52'$

24 h. après..... $\alpha = + 2^{\circ} 3'$

soit un $[\alpha]_D^{19} = + 51^{\circ}.22$

le pouvoir rotatoire du glucose $d : [\alpha]_d = + 52^{\circ}.5$

Pouvoir réducteur. — 0 g.,08 de cet ose correspondent en utilisant la technique de MOHR-BERTRAND [3] à 0g.,1461 de cuivre, (chiffre déterminé expérimentalement pour le glucose par G. BERTRAND : 0 g.,1462).

Osazone. — L'osazone, préparée avec la phénylhydrazine, purifiée par lavage prolongé à l'alcool méthylique présente tous les caractères de la phénylglucosazone : au microscope branches de genêt, et point de fusion instantané sur le bloc d'environ $+ 225^{\circ}$, exactement comme ceux de cette dernière et de son mélange avec elle.

Méthylglucoside β . — Une solution de 5 g., 0023 de sucre dans 250 cm3. d'alcool méthylique à 70 p. 100 est soumise à l'action de 1 g., 50 d'émulsine suivant la technique d'Em. BOURQUELOT et de M. BRIDEL [14] la réaction est conduite simultanément à un même essai de glucose pur. Les flacons sont laissés à la température du laboratoire, 20-22° et agités très fréquemment à la main.

Déviation initiale	: $\alpha = + 2^{\circ}10'$	(1 = 2)
Déviation finale	: $\alpha = - 58'$	
(47 jours après)		
Déplacement à gauche	: $3^{\circ} 8'$	
Sucre réducteur combiné	: 4 g. 1062	
Sucre réducteur combiné p. 100:	82,12	

Dans les expériences semblables faites par EM. BOURQUELOT et EM. VERDON [22], le retour vers la gauche était de $3^{\circ}10'$ et l'équilibre obtenu pour 82,6 de glucose estérifié.

Extraction du méthylglucoside β . — Pour extraire l'hétéroside obtenu, on évapore la solution filtrée, à sec sous pression réduite, et l'on reprend le résidu par l'ester acétique bouillant, le méthylglucoside β cristallise par refroidissement.

Les cristaux recueillis sont essorés puis lavés à l'ester acétique anhydre et séchés dans le vide en présence d'anhydride phosphorique.

Identification du méthylglucoside β . — Au microscope petits prismes rectangulaires, non réducteurs.

Point de fusion au bloc MAQUENNE : + 103°

Pouvoir rotatoire en solution aqueuse :

$$[\alpha]_D^{24} = -31^{\circ}54 \quad (\alpha = -2^{\circ}4', l = 2, p = 0,3276, v = 10 \text{ cm}^3, t = 21)$$

Les constantes du méthylglucoside β données par EM. BOURQUELOT et M. BRIDEL [12-13-14] sont :

Point de fusion + 102, 104°, $[\alpha]_D = -32^{\circ},06$.

Toutes ces réactions permettent de conclure à glucose *d* :

L. BOURDIER pouvait donc dire à juste titre en 1908 [8] : *l'hydrolyse de la verbénaline fournissait donc du glucose d et la règle formulée à propos du dédoublement des glucosides hydrolysables par l'émulsine se trouvait vérifiée une fois de plus : «Tous ceux de ces glucosides actuellement connus sont lévogyres et dérivent du glucose d »*(EM. BOURQUELOT 1907 [10]. (*).

Hydrolyse par l'acide sulfurique

Dans ces expériences j'ai employé uniquement l'acide sulfurique à 2 g.,50 p. 100 cm³. concentration qui m'a donné les meilleurs résultats dans des essais analogues sur d'autres hétérosides.

Dans une *première expérience* j'ai cherché :

a) si l'acide sulfurique à 2 g.,50 p. 100 cm³. modifie le verbénalosite à froid.

b) au bout de combien de temps l'hydrolyse de ce corps est achevée.

(*) A cette loi, on connaît cependant une exception ; le philyroside hétéroside extrait du *Philyrea latifolia* L., étudié par Mlle A. KRAMER [76] est dextrogyre, bien que dédoublable par l'émulsine en glucose *d* et philygénol.

J'ai fait les deux solutions suivantes :

- 1) verbénaloside (5° cristal.) 1g.,0026
 eau distillée q. s. p. 50 cm³.

cette solution a une déviation de — 7°11'

- 2) SO₄ H₂ pur 2 g.,50
 eau distillée q. s. p. 50 cm³.

après mélange de 1 et 2, la déviation est $\alpha = -3^{\circ}36'$, soit la moitié de la déviation de la solution 1, donc l'acide sulfurique à 2g.,50 p. 100 cm³. n'a pas d'action à froid sur le pouvoir rotatoire du verbénaloside.

Dans treize tubes à essai, j'ai mesuré exactement 7 cm³,5 du mélange, les tubes scellés sont placés au bain d'eau à 100°. Le temps voulu écoulé, les tubes sont enlevés, refroidis rapidement sous un courant d'eau froide, agités pour entraîner l'eau de condensation contenue dans la partie supérieure, et le liquide examiné au polarimètre. Les résultats sont les suivants :

<i>Temps de chauffage</i>	α	observations
Au départ	— 3°36'	
30min.....	— 2°38'	
1 heure.....	— 2° 7'	
2 »	— 1°	très légère teinte jaune
3 »	— 20'	» » » »
4 »	— 11'	» » » »
5 »	— 2'	» » » »
6 »	+ 8'	» » » »
7 »	+ 18'	teinte jaune
8 »	+ 20'	» »
9 »	+ 28'	léger précipité noir
10 »	+ 28'	» » »
11 »	+ 28'	» » »
12 »	+ 30'	» » »

Il est à noter que le liquide a une coloration beaucoup moins jaune que les solutions de même concentration après hydrolyse par l'émulsine au contact de l'air. Pourtant

quelques cm³. de liquide abandonnés à l'air dans un verre de montre laissent par évaporation une tache brune.

D'après ce que nous savons de l'hydrolyse par l'émulsine, le dédoublement complet est obtenu lorsque la déviation est de + 8' à + 10', ce résultat est atteint ici en six heures ; après ce temps le pouvoir rotatoire continue à augmenter à cause de l'altération de l'aglucone lévogyre (*) (**).

En ouvrant les tubes on perçoit une légère effervescence, ce phénomène très léger avec une solution à 1 g. p. 100 d'hétéroside, est très marqué avec une solution à 5 p. 100 ; une hydrolyse ayant été faite dans des ampoules de 50 cm³., afin d'isoler les produits de dédoublement un certain nombre d'ampoules ont explosé au cours de l'expérience. En brisant une ampoule sous le mercure et recueillant le gaz dans un tube plein de mercure, il a été facile de l'identifier à de l'anhydride carbonique, il est en effet entièrement absorbable par une solution alcaline diluée. Dans l'expérience suivante je l'ai dosé.

2^e expérience.

La solution :

verbénaloside 5^e crist. 7 g.,50

sol. de SCl_2 H_2 à 2 g., 50 p. 100 cm³. q. s. p. 150 cm³.

a une déviation $\alpha = -18^\circ$ et un pouvoir réducteur exprimé en glucose de 4g.,3465 p. 100 cm³.

Elle est mise dans des ampoules contenant exactement cinq cm³.

1 ampoule est chauffée 3 heures à 100°, très légère teinte jaune ;

(*) V. p. : 45 et p. : 119.

(**) L. BOURDIER a fait deux hydrolyses acides du verbénaloside.

1^o expérience : $\text{SO}_4 \text{H}_2$ à 2 g. p. 100 cm³.

au départ $\alpha = -3^\circ 36'$ (p = 0 g., 9985, v = 50 cm³, l = 2).

après 14 heures de chauffage $\alpha = +11'$.

2^e expérience : $\text{SO}_4 \text{H}_2$ à 5 gr., 100 cm³.

au départ $\alpha = -3^\circ 36'$ (p = 0 gr., 500, v = 50 cm³, l = 2)

après 6 heures de chauffage $\alpha = +22'$.

8 ampoules sont chauffées 6 heures à 100°, légère teinte jaune ;

9 ampoules sont chauffées 12 heures à 100°, légère teinte jaune ;

9 ampoules sont chauffées 18 heures à 100°, coloration jaune, léger précipité noir.

Sur le contenu de ces ampoules j'ai pris directement la déviation avant et après neutralisation par le carbonate de plomb (les chiffres sont identiques), le pouvoir réducteur, puis, après traitement à chaud par l'éther (en milieu acide), j'ai repris sur les solutions neutralisées la déviation et le pouvoir réducteur.

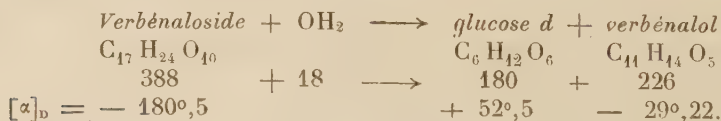
Sur les solutions neutralisées, non traitées par l'éther, j'ai recherché la coloration obtenue par addition de perchlorure de fer au dixième.

Enfin sur des ampoules chauffées 6, 12 et 18 heures, j'ai dosé l'anhydride carbonique.

Coloration par le perchlorure de fer. — Le liquide chauffé 3 et 6 heures après neutralisation, donne rapidement par le perchlorure de fer au dixième une coloration tirant vers le lie de vin. Les liquides, chauffés 12 et 18 heures, ne se colorent qu'en jaune, mais après quelques jours, la coloration fonce sans atteindre la coloration lie de vin des premiers tubes. Il semble que plus le chauffage acide a été maintenu longtemps, moins la coloration se produit.

Effervescence de la solution au moment de l'ouverture de l'ampoule. Elle croît avec le temps d'hydrolyse ; dans les ampoules chauffées 18 heures, il y a une véritable petite explosion.

L'hydrolyse théorique calculée d'après les chiffres trouvés pour le dédoublement par l'émulsine sont les suivants :
(*)



(*) V. p. : 120.

Solution aqueuse à 5 g., p. 100 cm³. de verbénaloside :

$$\alpha = -18^{\circ} \longrightarrow + 2^{\circ}25' + (-1^{\circ}40') = + 45'$$

Pouvoir réducteur exprimé

$$\text{en glucose : } 4 \text{ g., } 530 \longrightarrow 2 \text{ g., } 3135 + 2 \text{ g., } 8690 = 5 \text{ g., } 1825$$

Mais, après enlèvement du verbénalol par l'éther, il ne doit rester en solution aqueuse que le glucose, la rotation de la solution devient : $+ 2^{\circ}25'$ et le pouvoir réducteur 2g.,3135.

Les chiffres expérimentaux ont été inscrits à côté des chiffres théoriques sur le tableau suivant :

Hydrolyse acide du verbénaloside

Sol. de verbénaloside à 5 g. p. 100 cm ³ , d'une sol. de SO ₄ H ₂ à 2 g.,50 p. 100 cm ³					
Durée de l'hydrolyse	α 1 = 2	Pouvoir réducteur en glucose p. 100 cm ³	Après trait. par l'éther		CO ₂ dégagé
			α 1 = 2	Pouvoir réducteur en glucose p. 100 cm ³	
— Chiffres théoriques —					
Au départ	- 18°	4 g., 5300			
Après hydrolyse	+ 45'	5 g., 1825	+ 2°25'	2 g., 3135	14 cm ³ ,26 (*)
— Ch. expérimentaux —					
Au départ	- 18°	4 g., 3465			
3 heures	- 3°35'	4 g., 5940			
6 heures	- 15'	4 g., 8258	+ 49'	2 g., 7547	11 cm ³ ,25
12 heures	+ 52'	4 g., 9632	+ 2°25'	2 g., 3925	12 cm ³ ,60
18 heures	+ 1°	4 g., 8528	+ 2°25'	2 g., 3925	14 cm ³ ,05
(*) CO ₂ calculé pour 1 COOH pour C ₄₇ H ₂₄ O ₁₀ .					

On voit que l'hydrolyse est terminée entre 6 et 12 heures de chauffe à 100°. Si on continue à chauffer, le verbénalol lévogyre est altéré (les ampoules contiennent un léger précipité noir), le pouvoir rotatoire droit augmente et le pouvoir réducteur diminue.

Après traitement par l'éther, on trouve la déviation et le pouvoir réducteur théorique du glucose produit au cours de l'hydrolyse.

Dosage de l'anhydride carbonique dégagé au cours de l'hydrolyse.

Si on admet que l'anhydride carbonique provient d'un carboxyle du verbénaloside, dans le cas d'une solution à 5 g. p. 100 cm³., on doit obtenir, le dégagement étant complet : 14 cm³.,26 de CO₂ à 0° et 760 mm. de Hg pour une ampoule de 5 cm³.

Technique. — Après plusieurs essais infructueux, le dosage a été effectué de la façon suivante : l'ampoule est lavée extérieurement à l'eau distillée, posée sur le fond d'un flacon bouché émeri de 250cm³. dans lequel on verse un volume connu de solution de soude N/10.

Le flacon est ensuite bouché soigneusement et violemment agité pour briser l'ampoule. Les acides sulfurique et carbonique de l'ampoule sont neutralisés par la soude. L'excès d'alcali est dosé en présence de deux indicateurs : phénolphtaléine et méthylorange.

Dans un premier essai, la solution est additionnée de trois gouttes de phénolphtaléine à 1 p. 100, puis on verse de l'acide sulfurique N/10 jusqu'à décoloration. Cette décoloration est obtenue lorsque toute la soude caustique est neutralisée et les carbonates transformés en bicarbonates, soit m cm³. d'SO₄ H₂ N/10 utilisés.

$$m = \text{soude caustique} + \frac{\text{CO}_3 \text{ Na}_2}{2}$$

Dans un deuxième essai, on ajoute à la solution précédente quelques gouttes de solution de méthylorange et on poursuit la neutralisation jusqu'à virage du jaune à l'orangé, soit n cm³. le volume d'SO₄ H₂ N/10 employé.

$$n = \text{soude caustique} + \text{CO}_3 \text{ Na}_2$$

La différence $n - m$ correspond à la moitié des carbonates et $2(n - m)$ donnent la quantité des carbonates et par suite le CO₂ contenu dans l'ampoule. (*)

(*) Un essai fait à blanc fournit s'il y a lieu un chiffre correctif.

Quantité de CO_2 dosé = $2 (n - m) \times 1,12 = \text{cm}^3$. de CO_2 à 0° et 760 mm. de Hg.

Les chiffres trouvés sont les suivants :

6 heures de chauffe à 100° : 11 cm ³ ., 25	} pour une ampoule de 5 cm ³
12 heures de chauffe à 100° : 12 cm ³ ., 60	
18 heures de chauffe à 100° : 14 cm ³ ., 05	

La quantité d'anhydride carbonique dégagé augmente avec la durée du chauffage. Elle correspond à la libération d'un CO_2 par molécule de verbénaloside après 18 heures de chauffe (chiffre théorique : 14cm³.,26, chiffre trouvé : 14cm³.,05).

Hydrolyse de l'hétéroside et libération d'un CO_2 par molécule sont deux phénomènes différents, en effet, l'hydrolyse est terminée vers 8 heures de chauffe, le dégagement de CO_2 correspondant à un COOH exige 18 heures.

Le dégagement de CO_2 ne se produit pas si on fait agir l'acide sulfurique sur une solution de 2g.,3135 de glucose p. 100 cm³., quantité correspondante au glucose formé dans l'hydrolyse du verbénaloside au cours de l'expérience précédente. Chauffée même durant 18 heures à 100° , cette solution contenant 2 g., 50 d' SO_4H_2 p. 100 cm³. dans une ampoule ne donne à l'ouverture aucune effervescence, ni dégagement de CO_2 , de plus les pouvoirs rotatoires et réducteurs ne varient pas.

Sucre d'hydrolyse du verbénaloside par l'acide sulfurique.

La solution d'hydrolyse acide est traitée par l'éther à chaud pour enlever le verbénalol. Le liquide neutralisé par le carbonate de calcium, est filtré, puis distillé à sec dans le vide.

L'extrait est repris à chaud :

1/ par 20 cm³. d'alcool absolu ; la solution alcoolique est filtrée bouillante pour éliminer le sulfate de calcium. Sur amorce de glucose elle cristallise. Les cristaux sont

recueillis, lavés en trois fois avec 6 cm³. d'alcool absolu, puis à l'éther.

Après 24 heures dans le vide, ils pèsent : 0 g., 622.

2/ par 1 cm³. d'eau distillée, puis 20 cm³. d'alcool absolu. Le liquide filtré ne cristallise plus ; la solution alcoolique donne un extrait qui est dissous dans 10 cm³. d'eau distillée.

Sur cette solution aqueuse, j'ai fait les deux essais suivants :

a/ 2 cm³. de solution, additionnés de 4 cm³. de liqueur cupro-alcaline mis en tube scellé 10 minutes au bain-marie bouillant donnent une réduction immédiate, mais l'oxyde cuivreux est un peu foncé à cause des traces d'aglucone restant dans la solution.

b/ 2 cm³. de solution, additionnés de 8 cm³. d'eau distillée, 0 g., 40 d'acétate de sodium, de huit gouttes d'acide acétique et de XVI gouttes de phénylhydrazine, sont mis dans un tube ; le tube est scellé et maintenu 30 minutes au bain-marie bouillant. Au bout de ce temps, il s'est formé des cristaux de glucosazone caractéristiques, en branches de genêt, légèrement souillés par la combinaison de traces de l'aglucone avec la phénylhydrazine.

L'osazone recueillie sur un petit filtre est lavée avec de l'alcool méthylique, puis à l'éther, elle devient d'un beau jaune d'or et fond au bloc MAQUENNE à + 229 °, 5 (point de fusion instantané).

Essai des cristaux. — J'ai fait la solution suivante :

sucres	0 g., 1500
eau distillée	15 cm ³ .

La solution est douée de mutarotation descendante, la déviation est de + 1°49' quelques minutes après la dissolution et de + 1°2' vingt quatre heures après, ce qui fait un pouvoir rotatoire stable de + 51°, 66. Le pouvoir rotatoire du glucose pur est : + 52°, 5.

1 cm³. de solution additionnée de 2 cm³. de liqueur cu-

pro-alkaline donne une réduction très franche, le précipité d'oxyde cuivreux est ici d'un beau rouge sans traces de souillures noires.

Comme dans l'hydrolyse du verbénaloside par l'émulsine, l'hydrolyse acide par l'acide sulfurique donne du glucose *d*.

VERBÉNALOL (*) [40]

Préparation. — Les liqueurs d'hydrolyse du verbénaloside par l'émulsine sont filtrées. Dans une grande ampoule à décantation on les traite par agitation avec de l'éther. Au contact de l'air les solutions aqueuses se colorent en brun et les solutions éthérées en jaune rapidement.

On suit l'enlèvement du verbénalol en additionnant une petite quantité de la solution aqueuse en cours d'épuisement avec du perchlorure de fer au dixième. On poursuit l'épuisement jusqu'à disparition de la coloration lie de vin obtenue au début.

Pour épuiser les 500 cm³. provenant de l'hydrolyse de 10 g. d'hétéroside, il faut environ cinq épuisements prolongés avec chaque fois 250 cm³. d'éther.

La solution éthérée décantée, privée d'eau par agitation avec du sulfate de sodium desséché, est évaporée à l'air dans des cristallisoirs à large surface, on obtient après départ de ce solvant un liquide jaune ressemblant à du baume du Canada. Ce liquide épais est placé dans différentes conditions, vide sulfurique, pièce chauffée, pièce froide. Dans le vide sulfurique et les pièces chauffées, on obtient un vernis jaune amorphe semblable à celui obtenu par L. BOURDIER. Par évaporation lente de l'éther en pièce froide, il se forme après plusieurs jours des cristaux jaunes.

(*) Pour l'aglucone phénolique du verbénaloside je n'ai pu prendre le nom de *verbénol* déjà donné à un alcool terpénique C₁₀ H₁₆ O, j'ai donc choisi celui de *verbénalol* non utilisé, à ma connaissance.

Si, avec ces cristaux, on amorce les solutions éthérées vers la fin de l'évaporation, on peut obtenir des cristaux en longues aiguilles groupées en houppes imbriquées, les unes dans les autres ressemblant à une cristallisation de caféine en solution aqueuse saturée.

Ces cristaux sont jaunes, les solutions éthérées elles-mêmes étaient jaunes, les premières hydrolyses s'étant faites dans les flacons non pleins, contenant de l'air. J'ai cru tout d'abord que la coloration provenait de l'action de la lumière sur l'aglucone, les hydrolyses suivantes furent faites en flacons jaunes et à l'obscurité, la solution d'hydrolyse était brune et le verbénalol extrait jaune comme avant.

Il fallait donc penser à une oxydation du verbénalol par l'air facilitée par l'oxydase de l'émulsine. Ce fait a été prouvé par des expériences que l'on rapportera plus loin. (*)

Afin de diminuer l'oxydation du verbénalol à l'air j'ai évaporé l'éther dans le vide sulfurique (grands cristallisoirs à fond plat sous cloche) et j'ai alors obtenu des cristaux blancs.

On peut aussi épuiser le verbénalol des solutions d'hydrolyse par de l'éther à chaud dans des appareils à épuisement continu, ce qui diminue considérablement le volume de solvant à employer et par suite la durée de l'évaporation.

Purification. — Les cristaux ainsi obtenus, lavés rapidement à l'éther pour enlever le corps huileux qui les souille parfois, peuvent être blancs et de bonne conservation.

Point de fusion instantanée au bloc MAQUENNE : + 133°. Quand les cristaux n'ont pas été lavés avec beaucoup de soin à l'éther, même s'ils paraissent blancs, ils prennent dans les flacons au contact de l'air dans les mois qui suivent une couleur jaune et dégagent une odeur rance.

(*) V. p. : 117.

Le produit jaune fond comme une graisse vers $+ 116^{\circ}$.

Un essai de purification par redissolution dans l'éther, addition de noir activé, ébullition de trente minutes et filtration, a donné par évaporation des cristaux semblables à ceux qui y ont été dissous. On ne peut donc les purifier par ce procédé.

Des solutions faites à chaud dans le chloroforme, dans l'alcool fort et absolu, dans l'acide acétique dilué, n'ont pas donné de cristallisations par refroidissement. Par contre, par dissolution à chaud au bain-marie dans l'acide acétique cristallisable, on obtient par refroidissement à la glace des cristaux qui, après lavage à l'acide acétique pur, puis à l'eau, sont blancs et bien cristallisés. Les solutions acétiques saturées deviennent par contre très rapidement rouge foncé.

Recrystallisation dans l'eau. — Une solution aqueuse saturée à chaud puis refroidie abandonne par évaporation des cristaux ; 2cm³. de cette solution ont laissé par évaporation 0g.,0522 de cristaux, ce qui fait une solubilité de 2g.,61 p. 100 de solution.

On peut également le faire recrystalliser dans l'acétone.

Caractères physiques.

Cristallisé dans l'éther, on peut l'obtenir en longues aiguilles groupées en houppes soyeuses.

Cristallisé dans l'acide acétique cristallisable on obtient des aiguilles prismatiques.

Une cristallisation lente laisse des prismes massifs de 2 à 3 mm. souvent maclés.

Au bloc MAQUENNE ces cristaux fondent nettement à $+ 140^{\circ},5$ (point de fusion instantané).

Ils n'ont pas d'odeur, pas de saveur amère (le verbénalose l'est très fortement), saveur légèrement douceâtre.

Ces cristaux cristallisent anhydres.

1/ *Cristallisation dans l'éther par simple évaporation.*

— vide SO ₄ H ₂ 24 h.....	0 g., 3731
— 2 heures étuve 99°5 puis vide SO ₄ H ₂ 20 m. (le produit a légèrement jauni)	0 g., 3709
— 24 h. - vide SO ₄ H ₂	0 g., 3713
— 2 h. 30 m. étuve 99°5 puis vide SO ₄ H ₂	0 g., 3701
— 24 h. dans le laboratoire, à l'air.....	0 g., 3701
Perte de poids.....	0,80 pour 100.

2/ *Cristallisation dans l'acide acétique cristallisable.*

— vide SO ₄ H ₂ 24 h.....	0 g., 2609
— 2 h. étuve 99°5 puis vide SO ₄ H ₂ (le produit n'a pas jauni).....	0 g., 2607
— 24 h. - vide SO ₄ H ₂	0 g., 2610
— 2 h. 30 m. étuve 99°5 puis vide SO ₄ H ₂ ..	0 g., 2607
— 24 h. dans le laboratoire à l'air.....	0 g., 2605
Perte de poids.....	0,15 pour 100.

Solubilité.

Le verbénalol est peu soluble dans l'eau, plus à chaud qu'à froid. Il est soluble dans le chloroforme, la pyridine, l'éther.

Il ne se dissout pas dans l'éther de pétrole.

Le verbénalol n'est pas entraînable par la vapeur d'eau :

1/ Liqueur filtrée d'hydrolyse du verbénaloside par l'émul-	
- sine	20 cm ³ .
Eau distillée	20 cm ³ .

Dans un petit ballon on distille lentement à feu nu, on recueille le distillat 5 cm³. par 5 cm³., les parties recueillies ne se colorent pas par addition de perchlorure de fer au dixième.

2/ Verbénalol	0 g., 15
Eau distillée	40 cm ³ .

La solution est distillée lentement dans un appareil complètement en verre et le distillat recueilli 5 cm³. par 5 cm³. jusqu'à récolte de 20 cm³.

Des prises d'essai de chaque fraction recueillie, additionnées de quelques gouttes de perchlorure de fer, ne se colorent pas en lie de vin ni immédiatement ni 24 h. après la distillation.

Le liquide restant dans le ballon, après refroidissement se colore fortement en lie de vin par le perchlorure de fer.

La chaleur n'a pas d'action sur les solutions aqueuses de verbénalol.

On a vu (*) que le chauffage des solutions aqueuses de verbénalosite n'entraînait pas de modifications de ce corps. En est-il de même pour le verbénalol ?

La solution :

verbénalol	0 g., 1052
eau distillée q. s. p.	50 cm ³ .

est faite à froid. Elle présente les caractères suivants :

$$\alpha = - 7'$$

5 cm³. réduisent comme 8 mg., 458 de glucose, la solution est maintenue au bain-marie bouillant pendant cinq minutes, après refroidissement la déviation et le pouvoir réducteur n'ont pas varié.

Pouvoir rotatoire. — Les recherches de L. BOURDIER l'avaient conduit à croire que l'aglucone du verbénalosite est dépourvue de pouvoir rotatoire.

Le verbénalol a un pouvoir rotatoire faiblement lévogyre.

Dans l'eau :

- 1) $[\alpha]_D^{24} = - 29^{\circ}, 22$ (p = Og., 2485, v = 12 cm³., l = 2, $\tau = 24^{\circ}$, $\alpha = - 1^{\circ} 24'$).
- 2) $[\alpha]_D^{20} = - 28^{\circ}, 93$ (p = Og., 2015, v = 20 cm³., l = 2, $\tau = 20^{\circ}$, $\alpha = - 35'$).
- 3) $[\alpha]_D^{19} = - 29^{\circ}, 07$ (p = Op., 2006, v = 20 cm³., l = 2, $\tau = 19^{\circ}$, $\alpha = - 35'$).

J'ai déterminé ce caractère physique sur des solutions

(*) V. p. : 26.

de verbénalol dans différents solvants, pour la raie D du sodium en utilisant un tube de deux décimètres.

Les valeurs trouvées sont reproduites dans le tableau suivant :

Pouvoir rotatoire du verbénalol dans différents solvants

Solvant	P en g.	V en cm ³ .	α	t en degré c.	$[\alpha]_D$
Eau distillée...	0,2485	12	— 1°43'	24	— 29°,22
Acide acétique	0,3083	10	— 50'	25	— 13°,45
Alcool absolu..	0,1104	10	— 15'	22	— 11°,32
Alcool à 60 c...	0,1614	10	— 58'	24	— 29°,93
Chloroforme..	0,0556	10	— 32'	22	— 47°,96
Ether éthylique	0,0417	10	— 24'	24	— 47°,96
Acétone	0,0960	10	— 31'	22	— 26°,90
Pyridine	0,1001	10	+ 16'	22	+ 13°,31

P = poids de verbénalol en solution dans V cm³.

α = rotation observée à t = température du tube.

Ces déterminations ont été faites sur du verbénalol recristallisé dans l'acide acétique, en employant des solvants vérifiés sans activité sur la lumière polarisée et d'une pureté aussi grande que possible ; le chloroforme était à 5 p. 1000 d'alcool absolu, l'acétone régénérée de sa combinaison bisulfite, l'acide acétique cristallisable, la pyridine rigoureusement exempte de ses homologues (*).

Dispersion rotatoire. — J'ai déterminé la dispersion rotatoire du verbénalol en solution acétique et en solution aqueuse.

L'appareillage comprenait un polarimètre de JOBIN et YVON muni d'un tube de deux décimètres, un monochromateur de BRUHAT, un arc à mercure de GALLOIS et une lampe à vapeur de sodium de REICHERT :

(*) La basicité très faible de la pyridine est suffisante pour changer le sens du pouvoir rotatoire du verbénalol.

La solution brunit rapidement même à l'abri de l'air.

1/ *Solvant : acide acétique* : p. = 0 g., 3082 ; v. = 10 cm³.

I. = 2 dcm. ; t = 25°.

λ en m μ :	589	579	546 (*)
α :	— 0°,83	— 0°,85	— 1°,13
$[\alpha]_{\lambda}^{25}$:	— 13°,45	— 13°,77	— 13°,31

2/ *Solvant : eau* : p. = 0 g., 2485 ; v = 12 cm³.

I. = 2 dcm. ; t = 24°.

λ en m μ :	589	579	546 (*)
α :	— 1°,21	— 1°,23	— 1°,49
$[\alpha]_{\lambda}^{24}$:	— 29°,22	— 29°,70	— 35°,98

Spectre d'absorption du verbénalol dans l'ultra-violet

La courbe d'absorption a été établie pour des produits cristallisés dans l'éther et dans l'acide acétique, *v. fig. : 3*. Ces spectres sont très différents de celui du verbénaloside.

La comparaison de ces courbes sera faite à propos de la constitution du verbénaloside (**).

Poids moléculaire.

Cette détermination a été obtenue par voie physique et par voie chimique.

1/ *par cryoscopie*. Le verbénalol étant peu soluble dans l'eau, on a opéré dans l'acide acétique cristallisable et dans le camphre.

a/ dans l'acide acétique.

verbénalol recristallisé dans l'acide acétique	1g.,6755
acide acétique cristallisable	50g.,9018
teneur pour 100	3,2915
Δ	0°,30

(pris au thermomètre différentiel de

BECKMANN).

(*) La visibilité dans le bleu (436 m μ) et dans l'indigo (404 m μ) étant médiocre, je n'ai pas tenu compte des déviations observées, trop imprécises.

(**) V. p. : 108 et fig. : 6.

$$\text{coefficient d'abaissement} \quad \frac{0,30}{3,2915} = 0,0911$$

$$\text{P. M.} \quad \frac{39}{0,0911} = 428$$

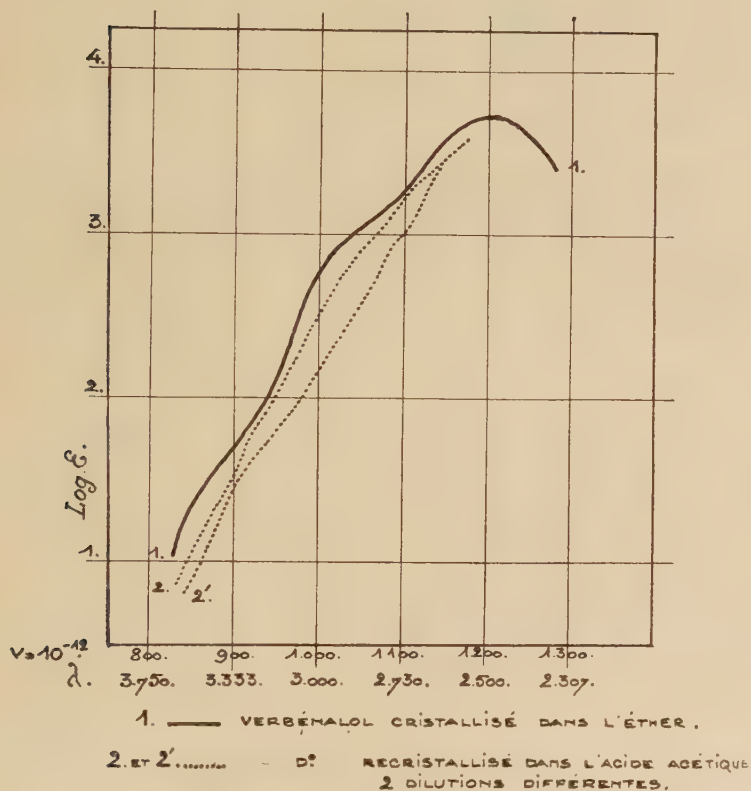


Fig. 3. — Spectre d'absorption dans l'ultra-violet du verbénalol.

ce chiffre est beaucoup trop élevé, environ le double du chiffre attendu ; on sait que l'emploi de l'acide acétique comme solvant entraîne souvent la formation d'agrégats moléculaires, il s'agit ici d'un dimère.

b/ dans le camphre (*).

verbénalol recristallisé dans l'acide acétique	0g.,0106
camphre	0g.,1111
teneur pour 100	9.,5949
Δ	22°,5
$P. M. 500 \times \frac{9,5949}{22,5} = 213$	

2/ par voie chimique.

Le dosage des méthoxy. par la méthode de ZEIZEL (**) permet de calculer le poids moléculaire du verbénalol.

Cet essai a été fait sur le verbénalol recristallisé dans l'acide acétique.

Prise d'essai	0g.,1988
I Ag.....	0 g., 2283
— O C H ₃ = $\frac{13,2 \times 0,2283}{100}$	0 g., 030135
$\frac{0,030135 \times 100}{0,1988} = 15,15$	p. 100 de verbénalol.
P. M. pour 1 — OCH ³	
$= \frac{100 \times 31}{15,15} = 204$	

COMPOSITION CHIMIQUE

Le verbénalol, chauffé sur une lame de platine, fond, charbonne et brûle sans résidu.

La recherche de l'azote, du soufre et du phosphore est négative. C'est un corps ternaire.

(*) Méthode de M. JOUNIAUX [72-73], appliquée à de petites quantités par K. RAST. [95].

(**) V. p. : 70.

Analyse élémentaire et composition centésimale.

	I (*)	II	
Poids de substance :	4 mg., 580	4 mg., 780	
O ₂ C :	9 mg., 795	10 mg., 330	
O H ₂ :	2 mg., 655	2 mg., 915	
	I	II	III
			Calculé pour C ₁₄ H ₁₄ O ₅
C p. 100 :	58,318	58,937	58,407
H p. 100 :	6,484	6,822	6,194
Poids moléculaire	213	205	226

Recherche des groupements fonctionnels.

I. — Une fonction phénol ?

A. — Réactions de coloration

a/ Perchlorure de fer.

Le verbénaloside ne se colore pas par le perchlorure de fer ; avec ce réactif au dixième, le verbénalol donne en solution aqueuse une coloration dite violette par L. BOURDIER, pour moi lie de vin ; pour trancher le différent, j'ai pris la teinte correspondante au « code des couleurs » de KLINGSIECK [75] n° 592 violet rouge, l'acide salicylique en solution aqueuse, franchement violet dans les mêmes conditions de concentration (0g.,10 pour 5 cm³. d'eau distillée) a la teinte n° 526 violet.

Cette coloration diminue par agitation avec l'éther, ce solvant évaporé abandonne du verbénalol qui, repris par l'eau, et additionné à nouveau de perchlorure de fer, se recolore en lie de vin. L'addition de bicarbonate de sodium ou de carbonate de sodium au dixième fait virer cette couleur vers le rouge.

On verra plus loin que l'attribution de cette réaction à une fonction phénol peut être discutée (**).

(*) L'essai I a été opéré sur du verbénalol cristallisé dans l'éther. L'essai II a été opéré sur du verbénalol recristallisé dans l'acide acétique.

(**) V. p. : 106.

b/ *Réactif de Millon.*

Une partie de réactif pour deux à trois parties de solution de verbénalol ne donne ni précipité, ni coloration.

J'ai complété ces réactions par les trois indiquées par M. FRANÇOIS et L. SÉGUIN [49] pour la diagnose des phénols, en suivant de façon très étroite leurs techniques.

c/ *Action de l'anhydride phtalique en présence d'acide sulfurique.*

Le verbénalol noircit dès le moindre chauffage ; coloration noire plus ammoniacque au dixième, ce dernier liquide se colore légèrement en jaune.

d/ *Action de l'acide sulfurique :* après cinq minutes à froid coloration plus jaune légèrement rosée ; à chaud le produit charbonne, coloration noire plus ammoniacque donne une coloration brune due probablement au lavage de la matière charbonnée.

e/ *Chloroforme à froid en présence de potasse :*

A froid, trente minutes après contact, les pastilles sont jaunes d'or, le chloroforme a la même coloration que la potasse. Ce liquide décanté et remplacé par de l'alcool absolu, ce dernier se colore lui-même en jaune.

f/ Les solutions de verbénalol dans l'éther, l'acide acétique, l'eau..., etc..., tachent la peau en noir comme le nitrate d'argent ; les taches viennent progressivement, mettant plusieurs heures pour atteindre leur intensité maximum (*).

La solution aqueuse de verbénalol additionnée de macération glycérolée de *Russula delica* ne se colore pas par agitation.

Cette macération essayée dans l'eau gayacolée donne très rapidement une coloration rouge.

Au cours de l'hydrolyse par l'émulsine, ce ferment se

(*) Dès 1714 LÉMERY dans son « *Traité universel des drogues simples* » [79], signalait que lorsqu'on écrase la Verveine et qu'on l'applique en cataplasme sur la peau elle laisse une couleur rouge.

colore en noir par fixation du verbénalol et oxydation au contact de l'air, le liquide d'hydrolyse se colorant en jaune. Si on opère l'hydrolyse dans le vide, l'émulsine reste blanche, le liquide incolore, mais dès la mise en contact du liquide avec l'air la coloration déjà décrite se produit (*).

B. — Ce corps se dissout très facilement dans les solutions alcalines.

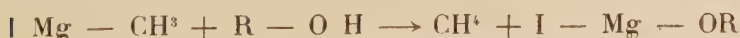
Les solutions alcalines de verbénalol se colorent en brun à l'air rapidement.

C. — Il rougit le tournesol même après agitation prolongée avec le carbonate de calcium, ses solutions sont nettement acides à la phénolphthaléine (**). Il ne se dissout pas dans la solution de bicarbonate de sodium, *ce n'est donc pas un acide organique*.

D. — *Nombre de fonctions —OH ?*

La méthode de ZÉRÉWITINOFF [110] permet de connaître le nombre d'oxhydriles actifs (alcools ou phénols), car elle révèle la teneur p. 100 en groupe —OH ou plus exactement le nombre des atomes d'hydrogène actifs dans la molécule.

Elle est basée sur la réaction classique de TISSIER et GRIGNARD [104] de l'iodure de méthyl-magnésium sur une molécule renfermant un oxhydrile.



Substance mg.	Volume CH ₄ 0° — 760 mm. cm ³	Trouvé		Calculé pour C ₁₁ H ₁₄ O ₅	
		OH %	H actif	OH %	H actif
141,7	29,8	16,06	2,44	14,93	2
194,6	39,7	14,17	1 89	14,93	2

(*) V. p. : 59 et p. : 117.

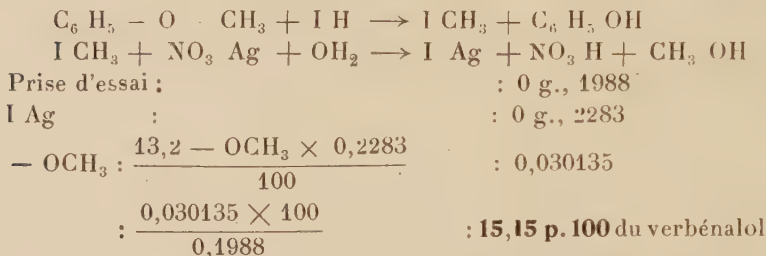
(**) V. p. : 70.

Il y a donc deux H actifs dans la molécule du verbénalol.

II. — Une fonction méthoxylée.

La méthode de ZEISEL permet de doser les O-CH₃ existant dans la molécule.

Elle repose sur les deux équations suivantes :



Calculé pour un méthoxy pour un poids moléculaire de 226 : 13,71 p. 100.

III. — Une fonction lactone.

Action des alcalis sur les solutions de verbénalol.

Alors que les solutions aqueuses du verbénaloside sont neutres (*), celles du verbénalol sont acides à la phtaléine, mais celui-ci ne se dissout pas dans la solution de bicarbonate de sodium, ce n'est donc pas un acide organique.

Le verbénaloside possède une fonction lactone (**), l'α-gluconc *a priori* aussi, voyons comment les bases agissent sur les solutions de verbénalol.

La solution :

verbénalol	0 g., 2030
eau distillée q. s. p.	20 cm ³ .

est additionnée de solution de soude N/10, elle jaunit aussitôt. 3 essais sont faits sur 5 cm³. de solution. Dans chacun on ajoute 5 cm³. de soude N/10 et après addition de

(*) V. p. : 34.

(**) V. p. : 34 et p. : 90.

II gouttes de phtaléine on dose l'excès de soude par l'acide sulfurique N/10.

Après cinq minutes de contact, la quantité de soude N/10 fixée est de 1 cm³., 7.

Après 10 minutes de contact, la quantité de soude N/10 fixée est de 2 cm³.

Après 24 heures de contact, la quantité de soude N/10 fixée est de 3 cm³., 1.

La quantité de soude fixée augmente avec le temps de contact. Ces additions alcalines entraînent une inversion du pouvoir rotatoire, le chiffre dextrogyre augmente avec la durée du contact. (*).

La solution primitive a une déviation de $-36'$ soit un $[\alpha]_D = -29^{\circ},40$.

Sur les essais précédents on a cherché la déviation après neutralisation et légère acidification par l'acide sulfurique N/10, (la solution alcaline jaune est redevenue incolore par addition d'acide),

les déviations sont :

Au départ	$\alpha = -36'$
10 minutes de contact avec la O H Na N/10	$\alpha = +12'$
24 heures » » »	$\alpha = +48'$
soit en ramenant au liquide primitif un $[\alpha]_D = +25^{\circ},64$ pour le 1 ^{er}	
$= +104^{\circ},93$ pour le 2 ^e	

La solution est alors traitée par l'éther à chaud, ce solvant évaporé abandonne un résidu cristallin qui, repris par 10 cm³. d'eau, a une déviation gauche ($\alpha = -6'$).

Au cours de ce dernier traitement, il y a donc eu vraisemblablement fermeture à nouveau du pont lactonique.

(*) La basicité très faible de la pyridine est suffisante pour changer le sens du pouvoir rotatoire du verbénalol.

On obtient par exemple : $[\alpha]_D^{20} = +13^{\circ},31$, ($\alpha = +16'$, $\gamma = 10$ cm³. p. = 0 g., 1001, t = 22°, l = 2).

La solution pyridique brunit rapidement même à l'abri de l'air.

Action de l'acétate neutre de plomb (réactif de COURTONNE).

Une solution :

verbénalol 15 cm³.
eau distillée q. s. p. 0 g., 1506

a une déviation de — 35' (pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D = -29^{\circ},02$) et un pouvoir réducteur : 1g. de verbénalol réduit comme 0 g., 9262 de glucose.

Elle est additionnée d'un dixième de son volume de réactif de COURTONNE. Il ne se produit aucun trouble ; après 48 heures de contact, la solution légèrement jaunie, donne (chiffres rapportés au liquide primitif) :

$\alpha = -33'$ et 1g. de verbénalol réduit comme 0 g., 9298 de glucose.

De même que pour le verbénaloside (*), l'acétate neutre de plomb n'a pas d'action sensible sur le pouvoir rotatoire et le pouvoir réducteur du verbénalol.

Action du sous-acétate de plomb.

Une solution :

verbénalol 0 g., 4012
eau distillée q. s. p. 40 cm³.

est additionnée d'un dixième de son volume de sous-acétate de plomb. Examinée 5 minutes, 15 heures et 24 heures après le mélange, on constate un changement dans la rotation et le pouvoir réducteur.

a/ *Diminution du pouvoir rotatoire :*

au départ	$\alpha = -35'$	soit un $[\alpha]_D = -29^{\circ},06$
cinq minutes après	$\alpha = -15'$	» $= -12^{\circ},95$
15 heures après	$\alpha = +14'$	» $= +11^{\circ},57$
24 heures	$\alpha = +24'$	» $= +20^{\circ},09$

b/ *Diminution du pouvoir réducteur :*

5 cm³. de la solution primitive réduisent comme 46 mg., 83 de glucose.

(*) V. p. : 31.

5 minutes après ils réduisent comme 36 mg.,82 de glucose.

15 heures après ils réduisent comme 34 mg.,66 de glucose.

Donc la diminution du pouvoir réducteur et le changement de rotation de la gauche vers la droite sous l'action du sous-acétate de plomb augmente avec le temps de contact. Une partie du phénomène est due vraisemblablement à l'influence de l'alcalinité du réactif sur la fonction lactone du verbénalol.

Action du sous-acétate de plomb et de l'ammoniaque.

On sait que le sous-acétate de plomb n'a pas d'action sur le verbénalol, mais que, par contre, l'addition du sous-acétate de plomb puis d'ammoniaque entraîne cet hétéroside dans un abondant précipité. C'est le procédé indiqué par RIEDEL (*) pour l'extraction de ce corps.

Le verbénalol, lui, sous l'action du sous-acétate de plomb, inverse son pouvoir rotatoire, et son pouvoir réducteur diminue de 23 p. 100. Qu'advient-il quant, à une solution de ce corps, on ajoute du sous-acétate de plomb, puis de l'ammoniaque ?

Une solution :

verbénalol	*	0 g.,1007
SO ₂ H ₂ (à 2 g., 50 p. 100) q. s. p.		10 cm ³ .

a une déviation de — 35'. Additionnée d'un dixième de sous-acétate de plomb, la déviation passe vingt-quatre heures après à + 24'.

Additionnée alors d'un dixième de volume d'ammoniaque il se fait un précipité blanc abondant. Le lendemain, après centrifugation, le liquide clair surnageant a une déviation égale à 0 et n'est pas réducteur.

Donc le verbénalol est précipité de ses solutions aqueuses par le sous-acétate de plomb et l'ammoniaque.

(*) V. p. : 17.

Essai de décarboxylation du verbénalol par l'acide sulfurique.

On a vu (*) que le verbénaloside chauffé longtemps à 100°, en présence d'acide sulfurique, perd de l'anhydride carbonique en quantité correspondant exactement à un carboxyle.

En est-il de même pour le verbénalol ?

Une solution :

verbénalol 10 cm³.
SO₄H₂ (à 2 g., 50 p. 100) q. s. p. 0 g., 1007

a une déviation de $\alpha = -23'$. Mise en ampoule de verre, scellée après vide, elle est chauffée au bain-marie bouillant. Après 18 heures de chauffage, la solution a jauni légèrement, il y a des traces de précipité noir en suspension.

A l'ouverture aucune effervescence, la solution a toujours une déviation de $\alpha = -23'$. Après neutralisation par du carbonate de baryum, la liqueur filtrée ne se colore plus par le perchlorure de fer.

Il n'y a donc pas eu départ de CO₂ comme avec le verbénaloside, mais le verbénalol ne se colore plus par le perchlorure de fer, donc légère modification.

IV. — *Fonction aldéhyde ou cétone.*

1/ *Réactions communes aux aldéhydes et aux cétones.*

a/ *Combinaison avec le bisulfite de sodium* : aucune combinaison apparente.

b/ *Réaction de LEGAL* :

Verbénalol sol. à 1 p. 100 4 cm³.
Sol. récente de nitroprussiate de sodium
à 1 p. 100 V gouttes
Lessive de soude D. = 1,33 IV gouttes

après agitation

(*) V. p. : 55.

acide acétique X gouttes

coloration rouge semblable à celle obtenue dans les mêmes conditions avec l'acétone.

Or DENIGÈS a montré que cette réaction n'appartient pas aux fonctions aldéhyde ou cétone, des aldéhydes comme le formol, l'aldéhyde benzoïque, le chloral, des cétones comme la diphenylcétone ne la donnent pas. Cette réaction caractérise le groupe $—CH_2—CO—$, à condition que la valence du carbonyle soit saturée par l'hydrogène ou par un radical hydrocarboné gras ou aromatique. La coloration obtenue est rouge quand ce radical appartient à la série grasse, bleue quand il provient de la série cyclique.

La réaction étant rouge, la fonction $—CH_2—CO—$ doit être dans une chaîne latérale, le $—CO—$ n'étant pas immédiatement à côté du noyau aromatique s'il y en a un.

c/ Phénylhydrazone.

Une solution aqueuse saturée de verbénalol additionnée d'une solution aqueuse au cinquième d'acétate de phénylhydrazine donne un précipité non cristallisé rouge noircissant à l'air.

Ce corps se dissout en rouge dans l'acétone.

Des essais effectués avec la 2-4- dinitro-phénylhydrazine ont donné une hydrazone jaune-rouge que je n'ai pu obtenir cristallisée.

2/ Réactions caractéristiques des aldéhydes.

a/ Réactif de SCHIFF.

Sol. verbénalol à 1 p. 100	2 cm3.
Réactif de SCHIFF	2 cm3.
Pas de recoloration.	

b/ Nitrate d'argent ammoniacal.

Sol. verbénalol à 1 p. 100	2 cm3.
NO^3 Ag ammoniacal	2 cm3.
réduction et miroir d'argent à froid.	

c/ *Liqueur cupro-potassique.*

Le verbénalol la réduit fortement à chaud en donnant une coloration vert noir au liquide surnageant.

Le pouvoir réducteur est mesuré par la méthode de MOHR-BERTRAND [3] 20 mg., 70 de verbénalol précipitent une quantité d'oxyde cuivreux correspondant à 38 mg., 77 de cuivre ce qui représente 19 mg., 33 de glucose.

Un gramme de verbénalol réduit comme 0 g., 9338 de glucose (*) ; (**).

d/ *Réactif de NESSLER.*

Traité par l'iodomercurate de potassium en milieu alcalin, le verbénalol donne un précipité jaune et non brunâtre. Si on augmente la dose de verbénalol on a un précipité noir très fin.

Réactif de NESSLER	5 cm ³ .
Sol. de verbénalol à 1 p. 100	1 goutte

3/ *Réactions caractéristiques des cétones.*

a/ *Réactif de DENIGÈS* au sulfate mercurique, additionné d'un peu de verbénalol, donne à froid, et plus rapidement à chaud, une coloration jaune puis rouge, enfin un précipité rouge vif (ressemble à OHg rouge).

Verbénalol à 2 p. 100	IV gouttes
Réactif de DENIGÈS	5 cm ³ .

Le précipité n'est pas blanc comme avec l'acétone.

b/ *Réactif de BOUGAULT et GROS* [5]

Avec l'iodomercurate de potassium en milieu alcalin, précipité jaune, et, si on augmente la dose de verbénalol, précipité noir très fin.

(*) Le verbénalol est plus réducteur que le verbénaloside, 1 gr. de celui-ci réduit comme 0 gr., 906 de glucose, v. p. : 38.

(**) On verra p. : 146, que le pouvoir réducteur du verbénalol augmente avec la concentration des solutions. Il sera donc nécessaire dans les recherches où l'on emploiera ces chiffres d'opérer toujours dans des conditions comparables de concentration.

Réactif de Nessler	5 cm ³ .
verbénalol à 1 p. 100	1 goutte

Cette réaction se rapproche de celles données par les cétones.

c/ Action de l'iode en milieu alcalin.

On fait la solution suivante :

verbénalol recrist.	0g.,05
eau distillée	10 cm ³ .
CO ₂ Na ₂ crist.	1 g.

On ajoute goutte à goutte la solution suivante :

I ₂	1g.,27
I K	2g.,
OH ₃	10 cm ³ .

jusqu'à coloration rouge. Odeur nette d'iodoforme. Le précipité recueilli est dissous dans le mélange éther + alcool absolu, évaporé sur une lame de microscope, on obtient de belles lames jaunes hexagonales d'iodoforme caractéristiques.

D'après SCHWINCKER, la réaction à l'iodoforme serait commune à tous les corps renfermant le groupe —CH² — CO — dont le carbonyle est en outre en relation avec un radical hydrocarboné ou avec H.

V. — *Double liaison.* Le verbénalol est un corps non saturé en effet :

1° Une solution de verbénalol à 1 p. 100 dans l'eau additionnée d'une petite quantité de bicarbonate de sodium puis d'une solution étendue de permanganate de potassium se colore en brun puis il se forme un précipité d'hydroxyde de manganèse.

2° Og.,03 de verbénalol mis en suspension dans 4 cm³. de tétrachlorure de carbone sont additionnés goutte à goutte d'une solution de brome à 1 p. 100 dans ce même

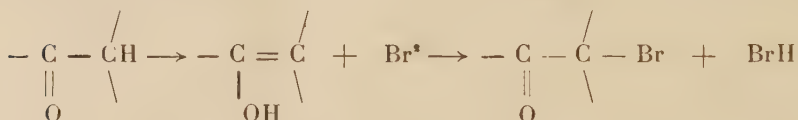
solvant. Les premières gouttes de brome se décolorent puis entraînent la formation d'une coloration vert-émeraude très stable.

3° 2 cm³. de la solution acétique suivante :

verbénalol	0 gr.,30
a. acétique	10 cm ³ .

sont additionnés d'une solution de brome dans ce même solvant, les premières gouttes se décolorent puis entraînent la formation de la coloration vert-émeraude stable déjà signalée plus haut.

A noter que certaines cétones peuvent sans posséder de double liaison fixer du brome par suite de la formation de la forme énolique



4° Le verbénalol en sol. aqueuse additionné d'eau de brome décolore celle-ci, mais, en présence d'un léger excès de réactif, ne donne pas de coloration verte.

5° Le verbénaloside fixe quatre hydrogènes pour donner un tétrahydroverbénaloside (*), deux hydrogènes étant fixés sur la fonction cétone et les deux autres devant se fixer sur une double liaison de l'aglucone.

Une réaction permet de préciser l'emplacement de cette double liaison.

Les travaux de A. WERNER [109], I. OSTROMISSLENKY [85], L. RUZICKA, H. W. HUYSER, M. PFEIFFER et C. F. SEIDEL [99] montrent que tous les composés organiques non saturés, en solution chloroformique, se colorent en jaune, jaune rouge ou brun par le tétranitrométhane. Mais certaines fonctions, bien que non saturées, font exception à cette règle, en ne se colorant que très faiblement. Ce sont

(*) V. p. : 39 et p. : 83.

les acides gras, les aldéhydes, les cétones et alcools, tous non saturés et ayant la fonction éthylénique en — α , β — par rapport à leur fonction oxygénée.

Or, en solution chloroformique, le verbénalol ne se colore par le tétranitrométhane qu'en une teinte jaune très faible. Si alors, dans cette solution, ou dans un tube témoin contenant chloroforme et tétranitrométhane, on ajoute une trace d'un corps possédant une double liaison, de l'eugénol par exemple, on obtient dans les deux tubes une coloration jaune rouge immédiate.

Cette réaction permet de supposer que la double liaison est contiguë à la fonction cétone ou peut-être lactone du verbénalol.

CONCLUSIONS.

On a décelé dans la molécule du verbénalol :

- a/ deux H mobiles,
- b/ un méthoxy,
- c/ une fonction lactone,
- d/ une fonction cétone non fixée directement sur le noyau,
- e/ une double liaison probablement contiguë à la fonction cétone ou lactone.

Les propriétés réductrices sont dues à la fonction cétone et à la double liaison, car l'hydroverbénalol n'est plus réducteur (*).

(*) Certains points seront discutés plus longuement aux conclusions générales sur la constitution du verbénaloside, v. p. : 104.

CHAPITRE III

HÉTÉROSIDES DÉRIVÉS DU VERBÉNALOSIDE

Tétrahydroverbénaloside.

Acide verbénalosidique.

Acétylverbénaloside.

Oxime du verbénaloside.

HÉTÉROSIDES DÉRIVÉS DU VERBÉNALOSIDE

HYDROVERBÉNALOSIDE

Le verbénaloside possédant une fonction cétone, il m'a paru intéressant d'essayer de l'hydrogéner afin d'obtenir un alcool contenant une aglucone peut-être moins altérable que le verbénalol.

La fixation de deux hydrogènes sur la fonction cétone introduit dans la molécule un autre atome de carbone asymétrique, l'alcool formé pouvant exister sous les deux



n'entraîne pas d'autres modifications.

Cette hydrogénation a été effectuée selon la technique de MM. Marcel DELÉPINE et Alain HOREAU [46], (*). Dix grammes de verbénaloside dissous dans de l'alcool dilué sont hydrogénés à la température et à la pression ordinaire en présence de nickel platiné, en milieu rendu très légèrement alcalin par la soude (**). L'hydrogène se fixe rapidement. L'opération terminée la solution est filtrée, le li-

(*) Je remercie respectueusement Monsieur le professeur MARCEL DELÉPINE d'avoir mis à ma disposition les ressources de son laboratoire pour cette hydrogénation.

(**) La trace de soude employée est insuffisante pour entraîner l'ouverture du pont lactonique des dix g. de verbénaloside.

quide clair neutralisé par quelques gouttes d'acide acétique, puis distillé à sec.

L'extrait est repris plusieurs fois par de l'ester acétique anhydre. Dans certaines reprises apparaissent des cristaux en plaquettes rectangulaires ou en forme de tonneaux. Ils servent à amorcer les autres solutions saturées.

La théorie faisant prévoir la formation de deux isomères, des fractionnements sont opérés et les cristaux recueillis et étudiés séparément.

Puis, les solutions mères estéro-acétiques sont réunies et abandonnées à l'évaporation. Il se forme au cours de la concentration des cristaux semblables à ceux déjà décrits (plaquettes et tonneaux) que l'on enlève ; vers la fin de la concentration, des aiguilles prismatiques, très différentes des cristaux précédents, apparaissent. Ces aiguilles recueillies sur un petit filtre, sont lavées avec de l'ester acétique, quelques gouttes d'alcool puis d'éther. Elles font l'objet d'une étude spéciale.

Caractères physiques.

Le produit cristallisé, séché à l'air, perd par chauffage, trois heures à l'étuve à 103°, 1,4 p. 100 de son poids ; il récupère d'ailleurs cette eau par séjour de quelques heures à l'air libre.

Forme cristalline : cristaux en plaquettes rectangulaires, ou à surfaces courbes en forme de tonneaux. *Cristaux uniques*, parfaitement homogènes, aplatis, probablement orthorhombiques. *v. fig.* : 4.

Au microscope polarisant, entre nicols croisés, les cristaux s'éteignent parallèlement à la direction cristallographique marquée, de plus il semble en lumière convergente, que le plan des axes optiques est parallèle à la lame ce qui entraîne pour les cristaux le système orthorhombique.

Les autres cristaux en plaquettes rectangulaires se rattachent au même système.

Verbénaloside et hydroverbénaloside cristallisent dans le système orthorhombique. (*)

Point de fusion. 160 à 165° selon les échantillons provenant de fractionnements différents.



FIG. 4 — *Cristal d'hydroverbénaloside* (grossissement six fois. Dessiné aux dimensions exactes d'après une microphotographie).

Pouvoir rotatoire. — Les chiffres varient selon les fractionnements ; voici quelques exemples :

$$[\alpha]_D^{22} = -112^{\circ},5 \quad (\alpha = -2^{\circ}15', \quad v = 20 \text{ cm}^3., \quad p = 0 \text{ g.}, \quad 20, l = 2, \quad t = 22^{\circ}).$$

$$[\alpha]_D^{22} = -100^{\circ}, \quad (\alpha = -2^{\circ}, \quad v = 10 \text{ cm}^3., \quad p = 0 \text{ g.}, \quad 10, l = 2, \quad t = 22^{\circ}).$$

$$[\alpha]_D^{20} = -100^{\circ}, \quad (\alpha = -2^{\circ}, \quad v = 20 \text{ cm}^3., \quad p = 0 \text{ g.}, \quad 20, l = 2, \quad t = 20^{\circ}).$$

$$[\alpha]_D^{20} = -87^{\circ},5. (\alpha = -3^{\circ}30', \quad v = 150 \text{ cm}^3., \quad p = 3 \text{ g.}, \quad l = 2, \quad t = 20^{\circ}).$$

Les fins cristaux provenant des solutions mères ont un pouvoir rotatoire droit. Dans un essai on a obtenu :

$$[\alpha]_D^{18} = +28^{\circ},22, \quad (\alpha = +50', \quad v = 15 \text{ cm}^3., \quad p = 0 \text{ g.}, \quad 2196, l = 2, \quad t = 18^{\circ}).$$

ce pouvoir droit doit correspondre encore à un mélange des deux isomères mais faute de matière première, je n'ai pu pousser plus loin mes fractionnements.

*Spectre d'absorption dans l'ultra-violet, (**).*

Ce spectre diffère beaucoup de celui du verbénaloside, la partie de la courbe correspondant à la fonction cétone a disparu.

(*) Détermination effectuées par M. WYART, maître de conférences de minéralogie à la faculté des sciences de Paris.

(**) V. fig. : 6, p. : 109.

Analyse élémentaire et composition centésimale.

Poids de substance	4 mg.,	020	
O ₂ C.....	7 mg.,	565	
O H ₂ ..	2 mg.,	580	
d'où en centièmes	Théorie pour		
	C₁₇H₂₆O₁₀ C₁₇H₂₈O₁₀		
C p. 100	51,32	52,30	52,04
H p. 100	7,32	6,60	7,14

Au cours d'une deuxième hydrogénation portant sur dix grammes de verbénaloside, la quantité d'hydrogène fixée dans l'expérience a été de 1240 cm³. à 18°, soit 1163 cm³. à 0°, soit 0g.,1045.

Chiffre théorique pour 2 H fixés : 0 g., 0515

Chiffre théorique pour 4 H fixés : 0 g., 1030

Il y a donc quatre hydrogènes fixés et la formule de l'hydroverbénaloside est bien C₁₇ H₂₈ O₁₀

Caractères chimiques.

La fonction cétone a disparu :

En effet la solution aqueuse d'hydroverbénaloside ne donne plus la réaction de *Legul* et n'est plus réductrice. De plus la liqueur cupro-alkaline chauffée avec de l'hydroverbénaloside reste bleue et ne prend pas la teinte vert-noir qu'elle donne avec le verbénaloside (*).

La fonction lactone subsiste à l'hydrogénation :

En effet si à une solution d'1 g., 40 d'hydroverbénaloside, on ajoute 9 cm³, 4 d'eau de baryte (10 cm³ = 0 g., 2873 OBa) et qu'on complète à 35 cm³ avec de l'eau distillée, la solution se colore en jaune (**). Sur 5 cm³. du mélange additionné de phtaléine, on dose en retour par de l'acide sulfurique N/10 la quantité de baryte non combiné, on obtient :

Quantité d'OBa contenu dans 5 cm³ du mélange : 24 mg.,13,

(*) Quelques fractionnements donnent une trace de réduction provenant peut-être d'un peu de verbénaloside non hydrogéné.

(**) La coloration jaune est moindre qu'avec une solution de même titre de verbénaloside.

2 minutes après le mélange, OBa fixé par l'hydroverbénaloside : 1 mg., 16 ;

15 minutes après le mélange, OBa fixé par l'hydroverbénaloside : 6 mg., 51 ;

45 minutes après le mélange, OBa fixé par l'hydroverbénaloside : 9 mg., 58 ;

6 heures après le mélange, OBa fixé par l'hydroverbénaloside : 20 mg., 01 ;

24 heures après le mélange, OBa fixé par l'hydroverbénaloside : 22 mg., 22.

La saveur amère primitive de l'hydroverbénaloside a disparu.

Hydrolyses.

1/ *par l'acide sulfurique à 2 g., 50 p. 100 cm³.*

Si l'hydrolyse fournit un aglucone sans pouvoirs rotatoire ni réducteur, 1 g. d'hydroverbénaloside en solution à 1 p. 100 doit donner après hydrolyse complète 0 g., 4568 de glucose dont la déviation est de + 29'. Or dans deux expériences j'ai obtenu :

- | | |
|---------------------|--|
| 1) $\alpha = + 15'$ | 0 g., 4908 de glucose p. 100 cm ³ . |
| 2) $\alpha = + 30'$ | 0 g., 4536 de glucose p. 100 cm ³ . |

La solution, bien que chauffée 9 heures à 100°, à l'ouverture des ampoules ne présente aucune effervescence.

Donc l'hydrogénation de la fonction cétone doit stabiliser le carboxyle.

2/ *par l'émulsine* (0 g., 50 d'émulsine p. 100 cm³. d'une solution à 1 p. 100 d'hydroverbénaloside).

Les résultats obtenus dans trois expériences sont :

- | |
|---|
| 1) $\alpha = + 28'$ et 0 g., 4380 de glucose p. 100 cm ³ . |
| 2) $\alpha = + 7'$ et 0 g., 4950 de glucose p. 100 cm ³ . |
| 3) $\alpha = + 4'$ et 0 g., 4932 de glucose p. 100 cm ³ . |

si l'hydrolyse se fait en présence d'air, le liquide noircit rapidement comme avec le verbénaloside, si elle s'opère dans le vide, le liquide reste incolore et l'émulsine blanche.

La solution d'hydrolyse par l'émulsine ne se colore pas par addition de perchlorure de fer. Au cours du dosage du sucre formé, la liqueur cupro-alkaline reste bleue.

De ces deux sortes d'hydrolyses on peut déduire que la nouvelle aglucone formée, *l'hydroverbénalol* :

1/ est altérable à l'air comme le verbénalol ;

2/ qu'il n'est pas réducteur, puisqu'on trouve aux erreurs expérimentales près le chiffre de réduction du glucose formé ;

3/ qu'il doit être doué du pouvoir rotatoire, la déviation terminale ne correspondant pas au pouvoir réducteur du glucose formé. De plus, ce pouvoir rotatoire doit varier selon les échantillons d'hydroverbénaloside utilisés, celui-ci étant un mélange de deux isomères optiques.

Le tétrahydroverbénaloside étant dédoublable par l'émulsine est un glucoside β .

HYDROVERBÉNALOL

Les solutions d'hydrolyse par l'émulsine sont traitées par l'éther. On évapore ce solvant après agitation avec du sulfate de sodium anhydre. Il abandonne des cristaux blancs d'hydroverbénalol.

Les formes cristallines varient selon les échantillons, tantôt cristaux en plaquettes rappelant les formes arrondies en tonneaux de l'hydroverbénaloside (*), tantôt en belles aiguilles prismatiques.

Les cristaux ont une saveur amère, étant légèrement impurs ils noircissent à l'air ; à degré de pureté égal ils paraissent moins altérables que le verbénalol, leur solution dans l'éther tache moins la peau en noir que celle du verbénalol.

Un échantillon dissous dans l'eau à chaud a donné une déviation gauche, par exemple :

(*) V. fig. : 4 p. : 85.

$(\alpha)_D = 10^{\circ},44, (\alpha = -22', p = 0 \text{ g.}, 1752, v = 10 \text{ cm}^3, l = 2).$

Leur solution aqueuse n'est pas réductrice, la liqueur cupro-alcaline chauffée avec cette solution reste bleue.

Additionnée de solution de perchlorure de fer au dixième, elle ne se colore pas en lie de vin comme avec le verbénalol.

Analyse élémentaire et composition centésimale.

Poids de substance :	4 mg , 795
O ₂ C	: 10 mg., 095
O H ₂	: 2 mg., 920

d'où en centièmes

Théorie pour

	C ₁₁ H ₁₆ O ₅	C ₁₁ H ₁₈ O ₅
C p. 100 :	57,413	57,391
H p. 100 :	6,766	7,894

ACIDE VERBÉNALOSIDIQUE ET SES SELS.

La solution aqueuse du verbénalosite est neutre au tournesol et à la phtaléine, mais, si on ajoute une quantité d'alcali insuffisante pour former le sel de l'acide verbénalosidique, la réaction, d'abord alcaline, devient progressivement neutre.

Voici une expérience :

à une solution de 2 g. de verbénalosite pour 50 cm³. d'eau, on ajoute 14 cm³. d'eau de baryte (10 cm³. = 0 g., 2873 OBa) et l'on complète à 100 cm³. avec de l'eau distillée. La solution jaunit immédiatement. Sur 5 cm³. du liquide additionné de phtaléine, on dose en retour par de l'acide sulfurique N/10 la quantité de baryte non combinée au verbénalosite.

Immédiatement (cm ³ . de SO ₄ H ₂ N/10 nécessaires)	2,6
5 minutes après	2,2
15 » »	1,5
30 » »	1,19

1	heure	après		0,85
3	»	»		0,40
6	»	»		0,21
9	»	»		0,14
24	»	»		0,13
48	»	»		0,13

La courbe de la figure : 5 représente la réaction ci-dessus.

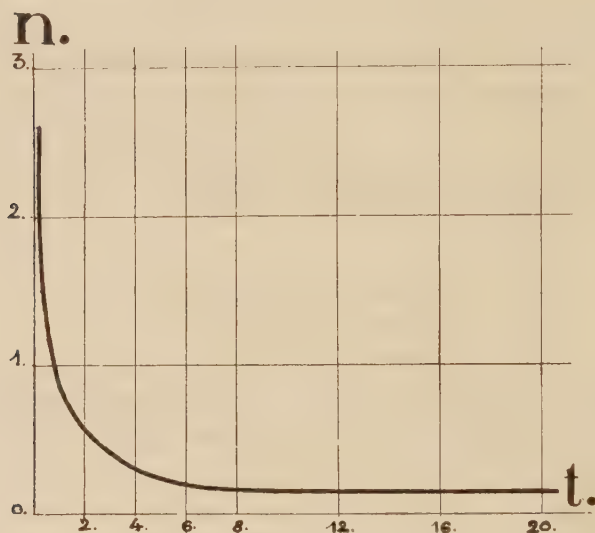


FIG. 5. — Neutralisation du verbénaloside par l'eau de baryte.

n = cm3 d' SO_4H_2 N/10 nécessaires pour neutraliser l'excès de OBa, non combiné au verbénaloside dans 5 cm3 de solution
t = temps en heures.

En même temps, la saveur très amère du verbénaloside disparaît. Le verbénaloside se comporte comme une lactone, s'hydratant progressivement sous l'action d'un alcali pour donner un acide. Les corps obtenus sont les sels de l'acide verbénalosidique $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$.

Verbénalosidate de baryum — $(\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{11})^2\text{Ba}$ —

La quantité de baryum fixée dans l'expérience ci-dessus

pour 1g. de verbénaloside est de 0g.,172 pour fournir 1g.,220 de sel de baryum (chiffre calculé pour 1g.,220 de verbénaloside de baryum : 0 g., 171).

Verbénaloside de sodium. — $C_{17}H_{25}O_{11}Na$

Si on remplace l'eau de baryte par de la soude décinormale, la fixation de l'alcali se fait comme dans l'expérience précédente, 1 g. de verbénaloside donne 1 g.,103 de sel de sodium fixant 0 gr.,0644 de sodium (chiffre calculé : 0 g.,0592).

Les solutions aqueuses de ces sels sont jaunes (*), elles se dessèchent dans le vide sulfurique sans cristalliser. Ces solutions ne sont plus amères, alors que la solution de verbénaloside l'est extrêmement. Elles se colorent en jaune rouge par addition de quelques gouttes de perchlorure de fer au dixième, coloration ne disparaissant pas par dilution.

Ces sels ont un pouvoir rotatoire stable de :

verbénaloside de baryum, $[\alpha]_D = -161^{\circ},53$

verbénaloside de sodium, $[\alpha]_D = -179^{\circ},05$

ils sont réducteurs, l'excès de liqueur cupro-alcaline se colorant en vert-noir comme avec le verbénaloside :

1 g. de verbénaloside de baryum réduit comme 0 g., 6967 de glucose.

1 g. de verbénaloside de sodium réduit comme 0 g., 7660 de glucose.

Acide verbénalosidique.

A une solution de verbénaloside de baryum exactement neutre on ajoute une quantité d'acide sulfurique N/10 correspondant strictement au baryum combiné. Il se fait un précipité de sulfate de baryum et la solution jaune devient incolore. On vérifie que la solution ne précipite ni par le chlorure de baryum ni par l'acide sulfurique. On centrifuge pour séparer le sulfate de baryum.

(*) Les lactones incolores ayant le caractère de pseudo-acides donnent des sels jaunes avec les alcalis après ouverture du pont lactonique.

Cette solution incolore, n'est pas amère, mais a une saveur légèrement acide. Elle rougit nettement le tournesol, décolore la phtaléine légèrement teintée par un alcali. Additionnée de quelques gouttes de perchlorure de fer au dixième, elle se colore en jaune foncé, teinte ne disparaissant pas par dilution. Au microscope, ajoutée à une solution saturée de bicarbonate de sodium, entre lame et lamelle, elle dégage des bulles d'anhydride carbonique.

Elle a une déviation gauche qui donnerait un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_D = -168^{\circ},97$ pour l'acide verbénalosidique. ($\alpha = -6^{\circ}43'$, $v = 157 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 3\text{g.},13$).

La solution est distillée dans le vide à basse température, l'extrait repris par de l'ester acétique anhydre. Ce solvant saturé est versé bouillant dans des flacons. Sur des amorces de verbénaloside il ne se forme pas de cristaux, mais, quelques jours plus tard, apparaît une cristallisation spontanée de petites aiguilles groupées en sphéro-cristaux.

Cristaux en aiguilles blanches, à saveur acide, très solubles dans l'eau, l'alcool, moins solubles dans l'ester acétique.

Point de fusion : sur produit recristallisé une fois dans l'ester acétique + 210° , + 212° (point de fusion instantané au bloc MAQUENNE).

Pouvoir rotatoire : dans l'eau.

$[\alpha]_D^{22} = -185^{\circ},99$ ($\alpha = -4^{\circ}5'$, $v = 10 \text{ cm}^3$, $p = 0\text{g.}$, 1095 , $l = 2$, $t = 22^{\circ}$).

Pouvoir réducteur. — 1 g. réduit comme 0 g.,9340 de glucose ; l'excès de liqueur cupro-alcaline se colore en vert-noir.

La solution aqueuse additionnée de quelques gouttes de perchlorure de fer au dixième se colore en jaune serin. Elle donne une réaction de *Legal* positive.

Spectre d'absorption dans l'ultra-violet. (*). — Cette

(*) V. fig. 6, p. : 109.

courbe ressemble à celle du verbénaloside, on retrouve sur elle la caractéristique de la fonction cétone avec un décalage vers le visible.

Analyse élémentaire et composition centésimale.

Poids de substance :	3 mg., 980
O ₂ C	: 7 mg., 395
O H ₂	: 2 mg., 110

d'où en centièmes

Calculé pour :

	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₁
C p. 100 :	50,673
H p. 100 :	5,889
	50,263
	6,403

Hydrolyse par l'émulsine.

Une solution $\left\{ \begin{array}{l} \text{a verbénalosidique non récrist.} \dots \text{ 2 g.} \\ \text{eau distillée q. s. p.} \dots \dots \dots \text{ 100 cm}^3 \end{array} \right.$

a une solution $\alpha = - 7^{\circ}17'$, soit un $[\alpha]_D = - 182^{\circ},08$ et un pouvoir réducteur correspondant à 1g.,804 de glucose (pour 100 cm³. de solution ou 2 g. d'a. verbénalosidique).

Elle est mise en ampoules de 50 cm³. avec 0 g., 50 d'émulsine et quelques gouttes de toluène. Les ampoules sont scellées une en présence d'air, l'autre avec un vide assez poussé et toutes deux placées à l'étuve à 33°.

Douze jours plus tard, l'ampoule contenant de l'air a un liquide ambré et une émulsine brune, celle avec le vide a un liquide incolore et une émulsine blanche.

Le liquide est déféqué au sous-acétate de plomb, il présente les caractéristiques suivantes :

$$\alpha = + 1^{\circ} 10'$$

100 cm³. réduisent comme 1 g., 533 de glucose.

(chiffres rapportés au liquide non déféqué).

L'acide verbénalosidique est hydrolysé par l'émulsine, c'est donc un glucoside β . Si la réaction s'opère en présence de l'air, l'oxydase de l'émulsine colore l'aglucone formée.

Hydrolyse sulfurique.

L'acide verbénalosidique s'hydrolyse également par l'acide sulfurique à 2 g., 50 p. 100 cm³. à la température de 100°.

Si on prolonge cette hydrolyse à 100°, il se fait un dégagement d'anhydride carbonique comme avec le verbénaloside (*).

Voici une expérience :
une solution

a. verbénalosidique	0 g., 50
SO ₄ H ₂ à 2 g., 50 p. 100 cm ³ . q. s. p.	10 cm ³ .

est mise en deux ampoules de 5 cm³. Celles-ci sont scellées et chauffées seize heures à 100°.

Une ampoule de 5 cm³. est brisée sous le mercure et les gaz recueillis et analysés,

gaz dégagés.....	11 cm ³ , 8
CO ₂ absorbé par la soude.....	10 cm ³ , 3
gaz restant.....	1 cm ³ , 5

P. = 758 mm., t = 23°

Ici comme pour le verbénaloside l'hydrolyse sulfurique prolongée entraîne une décarboxylation.

ACIDE VERBÉNALIQUE.

La solution d'hydrolyse par l'émulsine est traitée par l'éther, ce dernier après déshydratation par le sulfate de sodium desséché est évaporé. Dans l'extrait éthéré on voit apparaître de très fines aiguilles cristallines parfois maclées *d'acide verbénalique*. Il m'a été impossible de les isoler.

L'extrait est repris par de l'eau dans laquelle il est assez peu soluble.

La solution obtenue a une réaction nettement acide, dé-

(*) V. p. : 51.

plaçant l'acide carbonique d'une solution saturée de bicarbonate de sodium (au microscope). Elle se colore fortement en rouge légèrement violacé par le perchlorure de fer dilué. Cette coloration se rapproche beaucoup de la réaction de GERHARDT donnée par le perchlorure de fer avec l'éther acétylacétique.

Cette solution, nettement lévogyre, réduit fortement la liqueur cupro-alcaline, l'excès de réactif devenant vert noir.

ACÉTYLVERBÉNALOSIDE

Dans un ballon à acétyler on introduit :

verbénalosite	10 g.
acétate de sodium anhydre	10 g.
anhydride acétique	60 cm ³ .

Le ballon, plongeant dans l'eau du bain-marie, est chauffé à 100°. Le liquide se colore fortement. Après une heure de chauffe on le verse dans 250 cm³ d'eau froide. Une substance huileuse se sépare, on la lave à l'eau. Elle se dissout très facilement dans l'éther; on décolore au noir activé et l'on filtre. La solution encore légèrement jaune est agitée avec du sulfate de sodium desséché puis le liquide est évaporé. L'extrait liquide restant cristallise en masse après plusieurs jours.

Les fines aiguilles obtenues sont recristallisées.

Une solution

acétylverbénalosite	3 g.
acétone	15 cm ³ .

est versée dans 50 cm³. d'eau, il se fait un précipité laiteux qui se résout après plusieurs jours en une belle cristallisation. Les cristaux sont recueillis, lavés à l'eau, puis avec un peu d'alcool, puis d'éther.

Alors que ce travail était effectué, B. REICHERT et W.

HOFFMAN en juin 1937 [97], donnaient aussi la préparation et les caractères de ce corps. Leurs résultats correspondent aux miens.

Ils préparent l'acétylverbénaloside par action de l'anhydride acétique sur une solution de verbénaloside dans la pyridine, précipitation du dérivé acétylé par l'acide sulfurique à 5 p. 100 lavage à l'eau, puis cristallisation du produit dans un peu d'alcool.

Cristaux en aiguilles, à saveur amère, assez solubles dans l'eau chaude, très peu dans l'eau froide, très solubles dans l'alcool, l'acétone, l'acide acétique et l'éther.

Point de fusion — sur le produit recristallisé une fois : + 131° (fusion instantanée au bloc MAQUENNE), + 133° (B. REICHERT et W. HOFFMANN).

Pouvoir rotatoire — dans l'alcool à 90°.

$[\alpha]_D^{20} = - 133^{\circ},71$, ($\alpha = - 3^{\circ}14'$, $p = 0$ g., 1209, $v = 10$ cm3., $l = 2$, $t = 20^{\circ}$).

Analyse élémentaire et composition centésimale.

	I (CHEYMOL)	II (CHEYMOL)	III (REICHERT)
Poids de substance :	4 mg., 28	4 mg., 39	4 mg., 851
O ₂ C :	8 mg., 245	8 mg., 610	9 mg., 600
O H ₂ :	2 mg., 245	2 mg., 275	2 mg., 520

d'où en centièmes

C p. 100 :	52,54	53,49	53,99
H p. 100 :	5,86	5,79	5,81
Calculé pour un :			Cp. 100 Hp. 100
Tétraacétylverbénaloside : C ₁₇ H ₂₀ O ₆ - (-O-CO-CH ₃) ⁴			53,93 , 5,80
Pentaacétylverbénaloside : C ₁₇ H ₁₉ O ₅ - (-O-CO-CH ₃) ⁵			54,16 , 5,73
Trouvé :		I	52,54 , 5,86
		II	53,49 , 5,79
		III	53,99 , 5,81

Les résultats trouvés ne permettent pas de savoir s'il s'agit d'un dérivé tétra ou pentaacétylé.

Le dosage des acétyles fixés dans le corps obtenu m'ont donné des résultats inférieurs à ceux admis pour un tétra

ou un pentaacétylverbénalosite, B. REICHERT et W. HOFFMANN n'ont pas été plus heureux [97].

Cela n'a rien d'étonnant lorsqu'on sait que le verbénalosite possède une fonction cétone; J. RABATÉ [93] a montré que le dosage des acétyles pour les hétérosides possédant une fonction aldéhydique ou cétonique était entaché d'erreur par défaut.

Hydrolyse par l'émulsine

Une solution

acétylverbénalosite	0 g., 5010
acétone du bisulfite (*)	25 cm ³ .
eau distillée q. s. p.	100 cm ³ .

a une déviation de $\alpha = -1^{\circ} 10'$

Le liquide mis en ampoule en présence de 0 g., 50 d'émulsine p. 100 à 33°, est examiné un mois après, la déviation est de $-1^{\circ} 13'$, il n'y a donc pas eu d'hydrolyse.

Oxime de l'acétylverbénalosite.

Dans leur note de juin 1937, B. REICHERT et W. HOFFMANN indiquent la préparation de l'oxime de l'acétylverbénalosite.

Point de fusion : + 175, + 176°,

Analyse Substance : 3 mg., 764, CO² : 7,115 ; OH² : 1,880

C p. 100 H p. 100

Calculé pour un dérivé tétraacétylé C₂₅ H₃₃ O₁₄ N 52,52 5,82

» » penta ——— C₂₇ H₃₅ O₁₅ N 52,83 5,75

Trouvé 52,83 5,73

Ici encore l'analyse ne permet pas de conclure s'il s'agit d'un dérivé tétra ou pentaacétylé.

(*) L'acétone sert ici uniquement de solvant.

OXIME DU VERBÉNALOSIDE

L. BOURDIER prépare ce corps à froid de la façon suivante :

Le mélange

verbénaloside.....	2 g., 50
eau distillée..	12 cm3.
ch ^{te} d'hydroxylamine.....	2 g.
soude.....	1 g., 20,

après dissolution, est abandonné au repos. Quarante-huit heures après des cristaux apparaissent. Ceux-ci recueillis, lavés à l'eau, à l'alcool puis à l'éther pèsent : 0g.,48.

Des préparations faites à chaud, en utilisant l'alcool comme solvant et en présence d'oxyde de zinc, ne m'ont pas donné de bons résultats.

Caractères physiques. — Cristaux en lames rectangulaires, insipides, insolubles dans l'eau, très peu solubles dans l'alcool et l'acétone. L'insolubilité de l'oxime a empêché d'établir son poids moléculaire par cryoscopie, même par la méthode de RAST, car elle est insoluble dans le camphre.

Ces cristaux se décomposent sans fondre vers + 155° (L. BOURDIER), 0 g., 02 d'oxime dissous dans 5 cm3, de la liqueur alcaline de BERTRAND et additionnés de 5 cm3. de liqueur cuprique donnent une réduction immédiate à froid.

Analyse élémentaire et composition centésimale.

	I	II	III
Poids de substance (*) : 4 mg., 340	4 mg., 700	4 mg., 515	
N : 0 cm3. 6988	0 cm3. 755	0 cm3. 8036	
: (719 mm. et 17°)	(717 mm. et 15°)	(727 mm. et 20°)	
Poids de substance (*) : 4 mg., 280	4 mg., 710		
O ₂ C : 6 mg , 950	7 mg., 635		
O H ₂ : 2 mg., 350	2 mg., 580		

(*) Analyses faites sur des échantillons provenant de préparations différentes.

d'où en centièmes	Calculé pour			
	C ₁₇ H ₂₅ O ₁₀ N			
C p. 100 :	44,28	44,20	50,62	
H p. 100 :	6,10	6,08	6,20	
N p. 100 :	19,08	19,11	3,47	

On voit que la quantité d'azote de ce corps est considérable, il y a fixation de plusieurs molécules d'hydroxylamine sur celle du verbénaloside. Ce fait explique le très faible rendement obtenu dans la préparation par la technique de L. BOURDIER. J'ai renouvelé cette préparation en augmentant les proportions de soude et de ch^{le} d'hydroxylamine par rapport à l'hétéroside et j'ai pu ainsi plus que tripler le rendement.

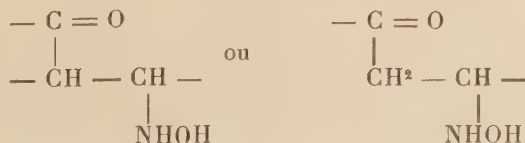
Comment expliquer cette si forte teneur en azote ?

Le verbénaloside possède une fonction lactone. Or on sait que le carbonyle du carboxyle dans les acides peut éventuellement donner lieu à des erreurs par suite de la formation d'acides hydroxamiques. A l'occasion, l'oxygène d'un oxyde ou d'une lactone peut réagir de la même façon (POSNER, FRANCESCONI et CUSMANO d'après H. MEYER [81] :

D'autre part le verbénaloside a une double liaison probablement voisine des fonctions lactone et cétone. Or les composés non saturés α - β du type.



réagissent sur l'hydroxylamine de telle façon que la base se fixe d'abord sur la double liaison :



et seulement l'hydroxylamine en excès attaque le carbonyle avec formation des oxamino-oximes.

Mais même ces deux mécanismes n'expliquent pas un chiffre aussi élevé en azote que celui trouvé.

L'insolubilité de l'oxime dans l'eau et son peu de solubilité dans le mélange acétone et eau m'ont empêché de vérifier si l'émulsine pouvait l'hydrolyser.

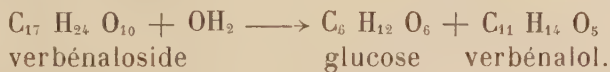
CHAPITRE IV

CONCLUSIONS SUR LA CONSTITUTION DU VERBÉNALOSIDE

CONSTITUTION DU VERBÉNALOSIDE

Des chapitres précédents on peut tirer les faits suivants :

Le *verbénaloside* est un hétéroside amer, lévogyre, très réducteur, de formule $C_{17} H_3 O_{10}$. Par hydrolyse, il se dédouble en une molécule de *glucose d* et une molécule d'une aglucone également lévogyre et réductrice le *verbénalol* selon l'équation :



On a caractérisé dans la molécule :

Un groupe méthoxy par la méthode de ZEISEL.

Une fonction lactone dans laquelle le carboxyle perd facilement son CO_2 par chauffage prolongé avec l'acide sulfurique à 2 g., 5 p. 100 cm³.

L'ouverture du pont lactonique donne de l'*acide verbénalosidique* $C_{17} H_3 O_{11}$, corps à saveur acide. Les solutions de ses sels sont jaunes. Ils sont hydrolysables par l'émulsine et les acides dilués.

Une double liaison.

Une fonction cétone. — Le verbénaloside réduit très fortement la liqueur cupro-alcaline, le nitrate d'argent ammoniacal, le réactif de NESSLER. Il donne une oxime à forte teneur en azote et une phénylhydrazone. L'iode en milieu alcalin donne une odeur nette d'iodoforme. La réaction de LEGAL est rouge, le $—CO—$ n'est donc pas sur un noyau benzénique. L'examen du spectrogramme fait préjuger que cette fonction ne serait pas plus éloignée qu'en β par rap-

port au noyau. Par hydrogénation on obtient un *tétrahydroverbénaloside* $C_{17} H_{28} O_{10}$ qui n'est pas réducteur et ne donne plus la réaction de LEGAL. Il y a donc disparition de la fonction cétone en même temps que de la double liaison. Le tétrahydroverbénaloside est hydrolysable par l'émulsine en glucose et une aglucone non réductrice : le *tétrahydroverbénalol*. L'hydrogénation de la fonction cétone stabilise le carboxyle.

Le verbénaloside donne un *acétylverbénaloside* dans lequel l'analyse n'a pu préciser s'il s'agissait d'un dérivé tétra ou pentaacétylé.

Le verbénaloside est un glucoside amer et réducteur.

L'amertume paraît liée à la fonction lactone, en effet, verbénaloside, hydroverbénaloside, acétylverbénaloside, corps à fonction lactone sont amers. L'ouverture du pont lactonique entraîne la suppression de cette saveur. C'est ainsi que l'acide verbénalosidique et ses sels ne le sont plus.

Le pouvoir réducteur est dû à la fonction cétone et à la double liaison : l'hydroverbénaloside n'a plus vis-à-vis de la liqueur cupro-alcaline le pouvoir réducteur que le verbénaloside, l'acide verbénalosidique et ses sels possèdent.

Acide verbénalosidique et hydroverbénaloside étant dédoublables par l'émulsine sont des glucosides β .

L'étude du *verbénalol* va nous permettre de préciser certains des points déjà indiqués.

Le verbénalol $C_{11} H_{14} O_3$ est l'aglucone lévogyre et réductrice du verbénaloside.

On caractérise dans sa molécule :

Un groupe méthoxy par la méthode de ZEISEL.

Deux H mobiles par la méthode de ZÉRÉWITINOFF.

Une fonction lactone, mais le carboxyle y semble plus stable que dans le verbénaloside car il résiste à un chauffage prolongé avec l'acide sulfurique à 2 g.,50 p. 100 cm³.

Une fonction cétone non fixée sur un noyau benzénique.

C'est à cette fonction cétone et à la double liaison que

paraît dû le pouvoir réducteur du verbénalol car le tétrahydroverbénalol n'est pas réducteur.

Une double liaison que l'absence de coloration par le tétranitrométhane permet de croire contiguë à la fonction cétone ou à la fonction lactone.

En dehors de ces faits plusieurs points sont à discuter :

1/ Y a-t-il un noyau benzénique dans la molécule et le lien glucose-aglucone se fait-il par une fonction phénol ?

2/ A quelle partie de la molécule est due la réaction de LEGAL ?

I. — *Noyau benzénique et fonction phénol.*

Certains arguments peuvent faire croire à la présence de ce cycle.

a. — L'étude du spectre d'absorption du verbénaloside dans l'ultra-violet laisse supposer l'existence de ce noyau.

b — Le verbénaloside est neutre au tournesol et à la phthaléine, le pont lactonique ne s'ouvre qu'en présence d'alcali laissant apparaître le caractère de pseudo-acide. Le verbénalol, lui, est acide à ces deux indicateurs bien que le pont lactonique soit fermé. Cette différence d'acidité ne peut provenir que de l'OH liant le glucose à l'aglucone. Seul un OH phénolique ou peut-être énolique libéré au cours de l'hydrolyse peut expliquer cette différence entre le verbénaloside et le verbénalol.

c — Le verbénaloside cristallisé ou en solution est peu oxydable et se conserve bien. Le verbénalol s'oxyde facilement, impur le produit cristallisé noircit en flacon bouché, les solutions d'hydrolyse du verbénaloside par l'émulsine ou les poudres fermentaires brunissent en présence d'air sous l'action de l'oxydase du complexe fermentaire, les solutions éthérées de cette aglucone tachent la peau en noir très foncé.

Cette oxydabilité ne paraît pas due aux fonctions cétone ou lactone de la molécule ; en effet les solutions de tétra-

hydroverbénalosite ou d'acide verbénalosidique hydrolysées par l'émulsine en présence d'air brunissent comme celles du verbénalosite. De plus les solutions d'hydroverbénalol tachent la peau en noir comme celles du verbénalol. Les solutions alcalines de ces corps brunissent rapidement à l'air.

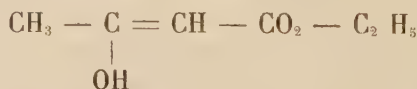
Ces réactions font penser à un OH phénolique, mais les phénols s'oxydent en milieu neutre ou alcalin, non en milieu acide, or les solutions de verbénalol dans l'acide acétique pur noircissent très vite et tachent la peau en noir. De plus les monophénols sont peu oxydables.

D'autre part on verra plus loin que lorsqu'on a groupé dans un schéma les fonctions trouvées on obtient un reste $C_5 H_7$ incompatible avec un noyau benzénique.

Reste la coloration lie de vin donnée par le perchlorure de fer dilué avec les solutions de verbénalol. L. BOURDIER l'a attribuée à la fonction phénol. Est-ce exact ?

Le verbénalosite, l'acide verbénalosidique, le tétrahydroverbénalosite ne se colorent pas par ce réactif. Le verbénalol provenant de l'hydrolyse par l'émulsine donne cette réaction, mais celui produit par l'hydrolyse sulfurique ne la donne que si le chauffage acide n'a pas été prolongé. L'hydroverbénalol ne se colore pas par le perchlorure de fer or si la fonction phénol existe dans le verbénalol, elle est également dans le tétrahydroverbénalol.

L'acide verbénalique la donne d'une façon encore plus intense, plus rouge qu'avec le verbénalol, se rapprochant davantage de la réaction de GERHARDT obtenue avec le perchlorure de fer et l'éther acétylacétique. Or on sait que dans ce dernier corps c'est la forme énolique.



qui se colore par ce réactif. Cette forme énolique est pratiquement très voisine de la fonction phénol — $CH = C -$



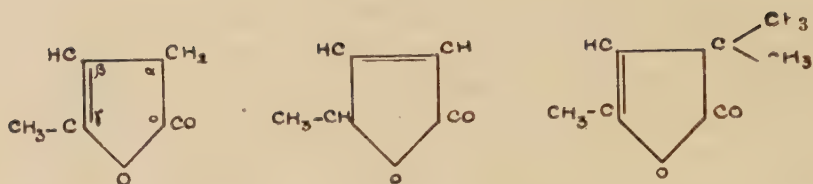
On peut donc penser que dans le verbénalol cette réaction n'est pas due à la fonction phénol mais à la forme éno-lique de la fonction cétone. Cela suppose que dans le verbénaloside et l'acide verbénalosidique seule la forme cétonique existe puisque ces deux corps ne se colorent pas en lie de vin par le perchlorure de fer. Si on admet le verbénalol existant sous les deux formes cétonique et éno-lique cela explique que dans certains cas, il y a coloration par le perchlorure de fer et non dans d'autres. Il suffit en effet de faire recristalliser le verbénalol dans l'acétone pour que cette réaction disparaisse, or dans ce cas il ne peut y avoir de modification structurale profonde.

II. — *Toutes les réactions indiquées pour la fonction cétone doivent-elles lui être attribuées ?*

Dans l'étude du strophantidol JACOBS et ses collaborateurs [67 à 71] ont trouvé une fonction lactone d'hydrate d'aldéhyde qui, avec élimination d'eau, donne une lactone ayant une double liaison voisine.



Or le strophantidol réduit le nitrate d'argent ammoniacal et colore le nitroprussiate de sodium. L'étude de ces réactions sur de nombreux dérivés du strophantidol a montré qu'elles étaient caractéristiques du groupe lactonique et de la double liaison voisine. Cette double liaison doit se trouver en β - γ par rapport à la fonction lactone et le carbone α posséder un H permettant l'énolisation du —CO— voisin. Ainsi des trois molécules suivantes, seule la première donnera une réaction de LEGAL positive :



A remarquer que ce groupe possède un H actif à la méthode de ZÉRÉWITINOFF provenant vraisemblablement de l'énolisation d'un H en α .

Par ailleurs, le strophantidol possède en plus une fonction aldéhyde.

Dans le verbénalol, il y a une fonction cétone puisqu'on obtient une oxime et une phénylhydrazone, mais une partie des réactions données également par les cétones (réaction de LEGAL, réduction du nitrate d'argent ammoniacal..., etc...) peuvent être dues comme dans le strophantidol au groupe lactone et à une double liaison voisine.

On a vu que la double liaison et la fonction cétone disparaissent par hydrogénation mais la fonction lactone persiste. Dans ce cas le carboxyle est stabilisé.

L'examen comparé des quatre spectres d'absorption dans l'ultra-violet du verbénaloside, de l'acide verbénalosidique, de l'hydroverbénaloside et du verbénalol (*v. fig : 6*) permet de rapprocher les deux premiers. Dans les deux, on retrouve la courbe caractéristique de la fonction cétone avec un décalage vers le visible dans l'acide verbénalosidique. L'ouverture du pont lactonique entraîne la différence. Dans le spectre de l'hydroverbénaloside la partie de la courbe correspondant à la fonction cétone a disparu.

Le spectre du verbénalol est différent des précédents sauf dans la partie la plus élevée des courbes. Il doit y avoir une modification de la structure moléculaire au cours de l'hydrolyse même fermentaire. L'existence des deux formes du — CO — décelé dans la molécule, cétonique dans un cas, énolique dans l'autre, est-elle suffisante pour expliquer la différence des deux spectres ?

Comment grouper la plus grande partie des faits précédents dans une formule du verbénalol ?

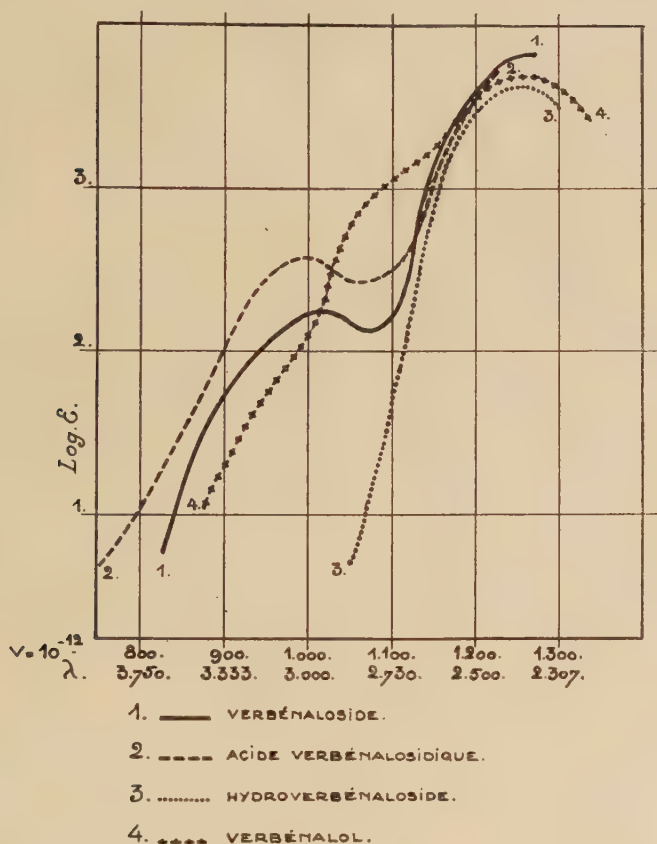
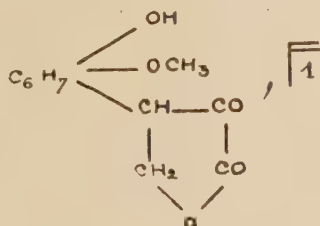
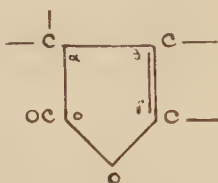


FIG. 6. -- Spectres d'absorption dans l'ultra-violet du verbénalolide, de l'acide verbénalosidique, du tétrahydroverbénalolide et du verbénalol.

Soit le schéma suivant :



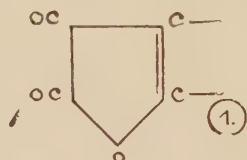
Admettons un cycle lactonique non saturé en $\beta\gamma$, par rapport au $-\text{CO}-$, c'est-à-dire le groupement



On peut supposer :

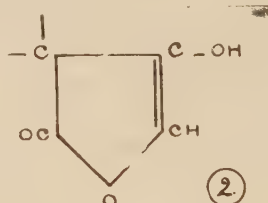
I. — La fonction cétone est dans ce cycle, dans ce cas quelle position peut-elle avoir ?

En α :



possibilité d'énolisation quel que soit l'endroit où l'on attache le reste de la molécule en β ou en γ ,

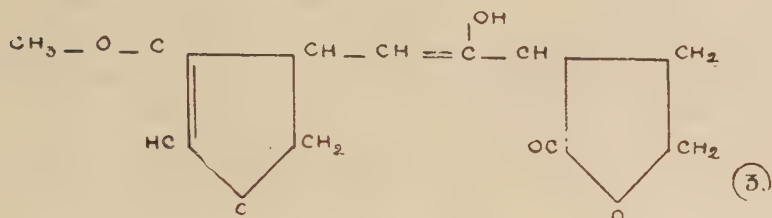
En β :



ce sera la forme énolique avec possibilité de passage à la forme cétonique. Dans le verbénaloside le lien avec le glucose se faisant nécessairement sur cet OH. Ce schéma explique la possibilité d'une décarboxylation facile, la formation d'iodoforme par l'iode en milieu alcalin et la réaction par le perchlorure de fer ; mais avec cette représentation, on ne voit pas pourquoi il y aurait une stabilité différente du carboxyle par chauffage avec l'acide sulfurique dilué entre l'oside et l'aglucone.

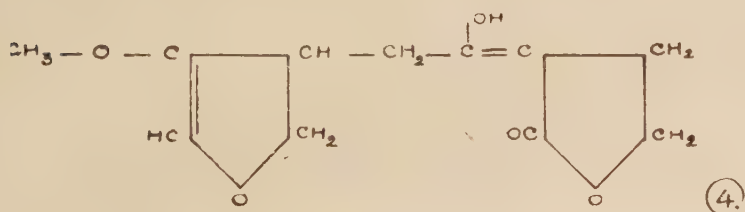
II. — Si on admet la fonction cétone et la double liaison en dehors du cycle lactonique.

Adoptons comme hypothèse de travail le schéma suivant :



Ici nous avons encore une $\text{C}=\text{C}$ en $\beta\text{-}\gamma$ par rapport au —CO— mais non intracyclique et ne rentrant pas strictement dans la règle de JACOBS ; celle-ci ne dit rien sur la double liaison en $\beta\text{-}\gamma$ en dehors du cycle lactonique, cependant nous constatons que la réaction de LEGAL est positive encore après ouverture du cycle lactonique ce qui est en faveur du schéma (3) et en désaccord avec le n° (2).

Ce schéma permet la possibilité de balancement de la double liaison : schéma (4).



Dans cette dernière formule le carboxyle porté sur un C quaternaire est beaucoup moins stable que dans la précédente, le schéma (3) correspondrait au verbénalol à CO_2 stable, le schéma (4) serait la forme de l'aglucone dans le glucoside, le sucre étant attaché sur l'OH énolique.

Dans les deux cas passage possible à une forme cétone qui serait celle du verbénalol recristallisé dans l'acétone.

Ces schémas permettent d'expliquer la formation d'iodo-

forme, la présence de deux hydrogènes mobiles et la possibilité de combinaisons avec l'hydroxylamine à forte teneur en azote. Ils réunissent la plus grande partie des faits énoncés au début de ce chapitre.

La forme exacte du cycle de gauche, l'emplacement de la double liaison, de l' — OCH₃, de la chaîne latérale sont purement hypothétiques. Je me suis simplement guidé sur l'idée que le squelette carboné de la molécule du verbénalol est constitué par deux restes isopréniques, de nombreux exemples de ce mode d'édification étant fournis par



la chimie végétale. Des expériences en cours permettront, j'espère, de compléter ou d'infirmar cette façon de voir.

ETUDE PHYSIOLOGIQUE DU VERBÉNALOSIDE

PREMIÈRE PARTIE

L'HYDROLYSE FERMENTAIRE

1. — Hydrolyse du verbénalosite par différents ferments.
2. — Vitesse comparative de ces divers ferments sur l'hydrolyse de cet hétéroside.
3. — Activité fermentaire de la poudre de *Verbena officinalis* L.
4. — Origine de l'anhydride carbonique dégagé au cours de l'hydrolyse par l'émulsine.

DEUXIÈME PARTIE

RÉPARTITION DANS LA PLANTE DU VERBÉNALOSIDE, AINSI QUE DES AUTRES GLUCIDES

1. — Technique des essais biochimiques.
2. — Etude de l'indice enzymolytique du verbénalosite.
3. — Calcul des résultats.

A. — *Verbena officinalis* L.

1. — Etude comparative des différentes parties de la plante au point de vue glucidique (oses, holosides, verbénalosite).

Extraction du stachyose des racines et des tiges.

2. — Modifications apportées par la dessiccation à la composition glucidique.

3. — Variations dans la composition glucidique au cours de la végétation d'une année (août 1935-juillet 1936).

B. — *Genre Verbena*.

(Extraction du stachyose des parties souterraines du *V. venosa*).

C. — *Autres genres de la famille des Verbénacées*.

D. — *Famille des Myoporinées*.

E. — *Ecorces de racines des Cornus florida L., C. Mas L.,*

C. sanguinea L.

F. — *Conclusions*.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

L'HYDROLYSE FERMENTAIRE

1. — *Hydrolyse du verbénaloside par différents ferments.*

- émulsine des amandes,
- poudre fermentaire de *Verbena officinalis* L.,
- géosidase,
- rhamnodiastase,
- émulsine de *Sterigmatocystis nigra*. V. TGH.,
- poudre fermentaire de *Sterigmatocystis nigra* V. TGH.,
- suc digestif d'Escargot *Helix pomatia*. L.,
- hépato-pancréas d'Escargot.

2. — *Vitesse comparative de ces divers ferments sur l'hydrolyse de cet hétéroside.*

3. — *Activité fermentaire de la poudre de VERBENA OFFICINALIS L.*

4. — *Origine de l'anhydride carbonique dégagé au cours de l'hydrolyse par l'émulsine.*

I. — HYDROLYSE DU VERBÉNALOSIDE PAR DIFFÉRENTS FERMENTS

J'ai indiqué brièvement (*) l'hydrolyse du verbénaloside par l'acide sulfurique dilué et par l'émulsine.

Dans ce chapitre, je ferai une étude détaillée de l'hydrolyse par l'émulsine des amandes, puis je passerai en revue l'action sur ce même hétéroside de divers ferments,

la poudre fermentaire de *Verbena officinalis*-L.

la géosidase,

la rhamnodiastase,

l'émulsine de *Sterigmatocystis nigra* V. TGH.,

la poudre fermentaire de *Sterigmatocystis nigra* V. TGH.,

le suc digestif d'escargot *Helix pomatia*. L.

I. — Hydrolyse par l'émulsine des amandes.

Au cours de l'hydrolyse du verbénaloside par l'émulsine, on constate que la solution incolore contenant en suspension des granulations d'émulsine blanche ne tarde pas à se colorer. Dès le lendemain, le liquide prend une teinte jaunâtre et l'émulsine se teinte en gris, ces colorations augmentent progressivement les jours suivants et deviennent jaune ambré pour le liquide et noire pour l'émulsine.

La lumière ne semble pas jouer un rôle dans ce phénomène. Des expériences faites simultanément en flacons non pleins, placés, les uns à la lumière dans le laboratoire, les autres à l'obscurité dans un placard fermé, donnent des colorations semblables.

(*) V. p. : 46.

L'oxygène de l'air, par contre, joue un rôle évident.

Pour le vérifier je fais l'essai suivant :

une solution de verbénaloside à 20 g. p. 1000 cm³, est préparée avec de l'eau distillée bouillie (*), toluénée à la dose de 1 cm³. par litre. Cette solution est divisée dans :

a/ un flacon de 250 cm³. non entièrement rempli ;

b/ un flacon de 250 cm³. plein ;

c/ et d/ : 2 ampoules de 250 cm³;

chaque récipient est additionné de 0 g., 50 d'émulsine. Puis les flacons sont bouchés au liège et paraffinés, le flacon *b* est vérifié ne contenant aucune bulle d'air, l'ampoule *c* est scellée après avoir fait le vide avec une trompe à eau, l'ampoule *d* est privée d'air par un vide très profond obtenu avec une trompe à mercure, et scellée.

Les quatre essais sont placés à l'étuve à 33°, agités plusieurs fois par jour. Après 30 jours ils sont examinés. L'ampoule *d* dont le vide a été obtenu à la trompe à mercure a une émulsine blanche et un liquide presque incolore, l'ampoule *c* au vide obtenu avec la trompe à eau et le flacon plein *b* ont une émulsine très légèrement chamois clair, un liquide à peine ambré. Le flacon *a* contenant de l'air a une émulsine grise et un liquide ambré. (**)

Les liquides provenant de *b*, *c* et *d* laissés à l'air se colorent rapidement et l'émulsine blanche laissée sur le papier où on l'a filtrée ne tarde pas à noircir.

Il s'agit donc d'une oxydation du verbénalol par l'oxygène de l'air activée par l'oxydase du complexe fermentaire qu'est l'émulsine, car les solutions aqueuses de verbénalol se conservent beaucoup plus longtemps incolores en l'absence d'émulsine.

(*) Pour enlever les gaz dissous et détruire les germes figurés.

(**) Si on recueille sous le mercure les gaz surmontant la solution d'hydrolyse dans le flacon *a* on constate une forte proportion d'anhydride carbonique absorbable par une lessive alcaline. On étudie p. : 135. l'origine du CO₂ produit dans cette réaction.

Cette coloration entraîne-t-elle une modification des chiffres trouvés au cours des hydrolyses ? 2 ampoules contenant la même solution de verbénaloside et additionnées d'émulsine, une en présence d'air, l'autre avec le vide, sont examinées après plusieurs jours ; la première a un liquide jaune et une émulsine noirâtre, la seconde un liquide incolore et une émulsine blanche. Or ces deux liquides examinés ont le même pouvoir rotatoire et contiennent la même quantité de substances réductrices. Après enlèvement du verbénalol par l'éther, rotation et matières réductrices sont semblables dans les deux cas. Donc la petite quantité de verbénalol oxydé ne modifie pas sensiblement les chiffres de l'hydrolyse.

L'émulsine ainsi colorée en noir est-elle encore active ?

Cette émulsine est recueillie sur un filtre sans plis, lavée à l'eau distillée pour enlever le liquide d'hydrolyse (ce dernier donnant une coloration lie de vin par addition de perchlorure de fer). Une partie mise en suspension dans une solution étendue de perchlorure de fer ne la colore pas en lie de vin. Le verbénalol est donc fixé sur l'émulsine à la façon d'une teinture et, une fois fixé, ne passe plus en solution dans l'eau. (*).

Cette émulsine noire a-t-elle été inactivée par le verbénalol ? On sait qu'au contact de certaines substances, telles que le tanin, ce ferment devient inactif, réaction démontrée par H. HÉRISSEY dans sa thèse sur l'émulsine [57] et retrouvée dans mes recherches sur le géoside [38] (**).

L'émulsine noire, recueillie sur un filtre, lavée à l'eau, à l'alcool, à l'éther, est séchée dans le vide sulfurique puis pulvérisée au mortier.

(*) A rapprocher du fait que le verbénalol colore progressivement la peau en noir, v. p. : 68.

(**) Cet hétéroside n'est pas dédoublé par l'émulsine dans les extraits de *Geum urbanum* L., par contre, en solution pure dans l'eau, il est dédoublé en arabinose *l*, glucose *d* et eugénol.

Elle est essayée sur une solution aqueuse de salicoside à 1 g. p. 100 cm³. comparativement avec une émulsine n'ayant pas servi.

La rotation au départ était de $-1^{\circ}20'$, un mois après elle était de $+36'$ pour les 2 expériences (chiffre théorique : $+39'$). Donc exactement le même chiffre, l'émulsine bien qu'ayant fixé le verbénalol reste active.

Connaissant les propriétés du verbénaloside et de ses produits de dédoublement décrits dans les chapitres précédents voyons si l'hydrolyse par l'émulsine est complète.

L'équation d'hydrolyse est :



Pouvoirs rotatoires :

$$[\alpha]_D = 180^{\circ},5 \quad + 52^{\circ},5 \quad - 29^{\circ},22$$

Le pouvoir réducteur d'un gramme de ces corps exprimé en glucose est :

$$0 \text{ g.}, 906 \quad 1 \text{ g.} \quad 0 \text{ g.}, 9338$$

Pour ces hydrolyses j'utilise une solution aqueuse de verbénaloside à 1 g. p. 100 cm³. 1 g. de verbénaloside donne après hydrolyse 0 g.,4627 de glucose *d* et 0 g., 5835 de verbénalol.

La rotation de la solution passe de :

$$- 3^{\circ}36' \quad \text{à} \quad + 29' \quad + (- 20') = + 9'$$

1 g. de verbénaloside $\longrightarrow$ 0 g., 4627 glucose *d* + 0 g., 5835 verbénalol.

Le pouvoir réducteur passe de

$$0 \text{ g.}, 906 \quad \text{à} \quad 0 \text{ g.}, 4627 + 0 \text{ g.}, 5738 = 1 \text{ g.}, 0365$$

Après enlèvement du verbénalol par l'éther, il ne doit rester en solution aqueuse que le glucose, la rotation de la solution = $+29'$ et le pouvoir réducteur = 0 g.,4627.

Voyons si l'expérience confirme ces données théoriques :
La solution

verbénaloside (5^e crist.) 1 g.,0000
eau distillée, q. s. p. 100 cm³.

$\alpha = -3^{\circ}36'$ soit un $[\alpha]_D = -180^{\circ},72$

1 g. de verbénaloside réduit comme 0 g.,8790 de glucose,

est additionnée de 0 g.,25 d'émulsine et de IV gouttes de toluène, mise en ampoules scellées après avoir fait le vide le plus profond possible à l'aide d'une trompe à eau. Les ampoules sont placées à l'étuve à 30°, agitées plusieurs fois par jour pendant un mois.

Ce temps écoulé, le liquide est très peu coloré en jaune, l'émulsine est chamois clair. Dès l'ouverture des ampoules et filtration sur un filtre sans plis, l'émulsine fonce rapidement à l'air, 24 heures après elle est franchement noire sur le filtre où elle est restée.

liquide filtré examen direct possible $\alpha = +16'$
100 cm³. réduisent comme 0 g., 9323.

Par addition de perchlorure de fer dilué la solution se colore en lie de vin. Le liquide est alors épuisé par l'éther pendant 10 heures à chaud, le liquide ne se colore plus par le perchlorure de fer.

La rotation est alors $= +28'$

100 cm³ réduisent comme : 0 g., 494 de glucose.

Si nous comparons ces résultats aux chiffres théoriques nous voyons :

1. Chiffres théoriques.
2. Chiffres expérimentaux.

au départ	à la fin de l'hydrolyse	après enlèvement du verbénalol
<i>Rotation</i>		
1 — 3°36'	+ 9'	+ 29'
2 — 3°36'	+ 16'	+ 28'
<i>Pouvoir réducteur</i>		
1 0 g., 9060	1 g., 0365	0 g., 4627
2 0 g., 8790	0 g., 9323	0 g., 4940

Les chiffres sont très voisins et les petites différences s'expliquent très bien :

1/ après l'hydrolyse la rotation est de + 16' au lieu de + 9', le pouvoir réducteur de 0 g., 9323 au lieu de 1 g., 0365 ; une petite quantité de verbénalol reste fixée sur l'émulsine d'où légère augmentation de la rotation (le verbénalol étant lévogyre) et légère diminution des matières réductrices.

2/ après enlèvement du verbénalol par l'éther, la rotation est théorique + 28' au lieu de + 29', le pouvoir réducteur 0 g., 494 au lieu de 0 g., 4627 ; ici aussi ces très légères différences peuvent provenir de traces de verbénalol restées en solution.

II. — Hydrolyse par la poudre fermentaire de *Verbena officinalis*.

Les végétaux possèdent généralement les diastases capables d'hydrolyser les glucides qu'ils contiennent. Ces ferments sont souvent fixés énergiquement sur les cellules et l'on peut préparer des poudres actives en broyant les tissus, les épuisant par l'alcool fort, pour enlever les glucides, et en séchant la poudre. L'inconvénient de l'emploi de ces poudres consiste dans le poids assez considérable de ferment à employer (généralement 1 g. pour 100 cm³. de solution).

Les essais de purification de ces ferments n'aboutissent généralement qu'à un appauvrissement et parfois à les rendre inactifs.

C'est ainsi qu'EM. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY [20] ont vu que les solutions aqueuses, glycérolées ou dans l'hydrate de chloral des poudres végétales riches en ferment, étaient complètement inactives malgré l'action dissolvante très grande de ces corps.

J'indique succinctement la préparation d'une de ces poudres végétales car j'aurai à en préparer un certain nombre au cours des essais biochimiques.

Un poids connu de plante nettoyée, lavée et essuyée — si ce sont des racines — est passé au hachoir universel, puis traité par trois fois son volume d'alcool à 90° dans un flacon émeri; le tout est agité fréquemment. Après six heures de contact, onessore sur un entonnoir de BUCHNER, puis la masse est lixiviée sur l'entonnoir en utilisant six fois son poids d'alcool fort. Après essorage la poudre épuisée est séchée à l'air libre pendant 24 heures, puis pendant un temps égal à l'étuve à 37° (*).

Une solution de 1 g., 004 de verbénaloside dans q. s. d'eau distillée p. 100 cm³. est additionnée d'un g. de poudre fermentaire de *Verbena officinalis*, de quelques gouttes de toluène et placée à l'étuve à 37°.

Déviatiôn (1 = 2)

au départ	$\alpha = - 3^{\circ}37'$
12 jours après	$= - 3^{\circ}$
15 » »	$= - 2^{\circ}57'$
30 » »	$= - 2^{\circ}45'$
— on ajoute à nouveau 1 gr. de poudre fermentaire	
40 » »	$= - 2^{\circ}22'$
53 » »	$= - 1^{\circ}44'$
68 » »	$= - 1^{\circ} 8'$
150 » »	$= - 27'$

La solution est jaune, elle se colore en lie de vin par le perchlorure de fer dilué.

La poudre fermentaire de *Verbena officinalis* hydrolyse lentement le verbénaloside, mais beaucoup moins vite que l'émulsine.

III. — Hydrolyse par la géosidase.

La poudre fermentaire de racines de *Geum urbanum* L (géosidase) a été utilisée par H. HÉRISSEY et J. CHEYMOL pour l'hydrolyse du géoside [62] (**) qu'elle dédouble en vicianose et eugénol, alors que l'émulsine dédouble cet hétéroside en arabinose, glucose et eugénol. Ce complexe

(*) C'est la technique que j'ai employée pour la préparation de la géosidase [38] ferment hydrolysant le géoside en vicianose et eugénol.

(**) Pour la préparation et l'étude détaillée de ce complexe fermentaire v. [38].

fermentaire est actif sur beaucoup d'hétérosides : glucosides β , primevérosides, vicianosides, mannosides α , ... etc...

J'ai essayé l'action d'1 g. de géosidase sur 1 g. de verbénaloside en solution aqueuse au centième.

Déviation		Pouvoir réducteur
1 = 2		exprimé en glucose pour 100 cm ³ .
au départ $\alpha = - 3^{\circ}36'$		0 g., 9062
28 jours après = + 22'		
45 » » = + 22'		0 g., 9470

Par addition de perchlorure de fer dilué la solution se colore en lie de vin. Un essai effectué dans le vide a donné des résultats semblables. De plus la solution d'hydrolyse laissée à l'air est beaucoup moins colorée que celles provenant de l'hydrolyse par l'émulsine dans les mêmes conditions. La géosidase est moins riche en oxydase que l'émulsine.

Après traitement par l'éther à chaud le liquide donne :

$\alpha = + 25'$ et 0 g., 512 de matières réductrices.

D'autre part l'éther évaporé abandonne 0g.,4060 de verbénalol pour 100 cm³. au lieu de 0g.,5835, la quantité de verbénalol manquante doit être fixée sur la poudre fermentaire de *Geum urbanum*-L. Ce qui explique que la rotation soit + 22' au lieu de + 9' et le pouvoir réducteur 0g.,9470 au lieu de 1g.,0365. (*).

L'hydrolyse du verbénaloside par la géosidase est donc semblable à celle effectuée par l'émulsine des amandes.

IV. — Hydrolyse par la rhamnodiastase.

La rhamnodiastase est la poudre fermentaire préparée à partir des graines de plusieurs *Rhamnus* et plus particulièrement du *Rhamnus utilis* DCNE par C. CHARAUX [37]. Déjà employée par C. et G. TANRET [102] en 1899, sa préparation a été précisée en 1926 par M. BRIDEL et C. CHARAUX [34].

(*) Par un essai témoin, je me suis assuré que la géosidase est inactive sur la lumière polarisée et la liqueur cupro-alcaline.

Ce complexe diastasique hydrolyse les primevérosides, les vicianosides, les rutinoides et les rhamnosides, son action sur les glucosides β est lente, et moins prononcée. Il était intéressant de l'essayer sur le verbénalosite.

Cette expérience a été faite à la dose de 0 g., 20 sur une solution aqueuse de 1g.,0192 de verbénalosite pour 100 cm³.

<i>Déviatiou (l = 2)</i>	<i>Pouvoir réducteur en glucose pour 100 cm³.</i>
au départ $\alpha = - 3^{\circ}35'$	0 g., 9233
12 jours après $- 3^{\circ}18'$	0 g., 8800
48 » » $- 2^{\circ}59'$	0 g., 8800
90 » » $- 2^{\circ}47'$	0 g., 8870

La solution se colore très légèrement en lie de vin par le perchlorure de fer dilué. (*).

La rhamnodiastase hydrolyse légèrement le verbénalosite, trois mois de contact entre la poudre fermentaire et la solution de ce corps n'assurent qu'environ le cinquième du dédoublement de cet hétéroside.

V. — Hydrolyse par l'émulsine de *Sterigmatocystis nigra*.

V. TGH.

Cette émulsine a été obtenue par la technique indiquée en 1895 par EM. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. [19].

On siphonne le liquide sous-jacent d'une belle culture de *Sterigmatocystis nigra* très fructifiée et on le remplace par de l'eau distillée, on renouvelle ce traitement à 2 ou 3 reprises en ayant soin de laisser séjourner sous la culture pendant quelques heures celle qu'on a introduit en dernier lieu. On enlève les dernières traces du liquide nutritif. On rejette encore cette eau et on la remplace par de l'eau distillée qu'on maintient cette fois pendant 3 jours. C'est ce dernier liquide siphonné qui constitue la solution fermentaire riche en émulsine.

Ce liquide n'a pas d'action sur la lumière polarisée et ne réduit pas sensiblement la liqueur cupro-alkaline.

(*) Par un essai témoin je me suis assuré que la rhamnodiastase n'a pas d'action sur la lumière polarisée et ne réduit pas sensiblement la liqueur cupro-alkaline.

Du verbénaloside pur dissous dans cette solution de façon à obtenir une solution à 1 g. p. 100 cm³., cette solution est additionnée de quelques gouttes de toluène et maintenue en flacon bouché et paraffiné à l'étuve à 33°.

<i>Déviatiou.</i>	<i>Pouvoir réducteur</i>
1 = 2	<i>en glucose p. 100 cm³.</i>
au départ α = — 3°36'	0 g.,9032
12 jours après = — 2°56'	0 g.,8804
22 jours après = — 2°32'	0 g.,8910

Au 22^e jour, le liquide, additionné de perchlorure de fer dilué, se colore en rouge violacé.

L'émulsine de *Sterigmatocystis nigra* V. TGH. en solution est donc active sur le verbénaloside, mais beaucoup moins rapide que l'émulsine des amandes.

VI. — Hydrolyse par la poudre fermentaire de *Sterigmatocystis nigra*. V. TGH.

Cette poudre a été préparée selon la méthode utilisée par P. HARANG en 1906. [56].

« On ensemence du liquide de RAULIN avec quelques conidies de *Sterigmatocystis nigra* et on porte à l'étuve à 33° ; vers le commencement du 2^e jour, c'est-à-dire dès l'apparition des premières fructifications on le retire de l'étuve, on décante le liquide nutritif que l'on remplace successivement cinq ou six fois par de l'eau distillée; on laisse jeuner à la température du laboratoire, en ayant soin de remplacer l'eau sous-jacente toutes les 24 heures. Le champignon est alors pressé entre deux feuilles de papier buvard, broyé finement, mis en contact pendant 3 heures avec 4 fois son poids d'alcool à 95°, puis essoré à la trompe, séché à l'étuve à 33° et pulvérisé. On obtient ainsi une poudre fermentaire très active ».

J'ai fait agir cette poudre fermentaire, à la dose de 1 g. p. 100 cm³. d'une solution de verbénaloside au centième additionnée de quelques gouttes de toluène, en flacon bouché et paraffiné placé à l'étuve à 33°.

Déviation (1 = 2)		Pouvoir réducteur en glucose p. 100 cm ³ .
au départ	= — 3°36'	0 g., 9011
12 jours après —	5'	0 g., 8896
22 jours après +	21'	0 g., 8940

La solution additionnée de perchlorure de fer dilué donne (*) une coloration lie de vin après l'action de la poudre fermentaire.

La poudre fermentaire de *Sterigmatocystis nigra* V. TGH. est devenue noire par fixation du verbénalol.

La poudre fermentaire de *Sterigmatocystis nigra* V. TGH. dédouble donc complètement le verbénaloside. Les chiffres de + 21' au lieu de + 9' et de 0g.,8940 de glucose au lieu de 1g.,0365 s'expliquent très bien par la fixation d'une petite quantité de verbénalol sur la poudre fermentaire.

VII. Hydrolyse du verbénaloside par le suc digestif et l'hépatopancréas d'*HELIX POMATIA* L.

GIAJA-J. [52] a montré la très grande richesse diastasique du suc digestif d'*Helix pomatia* L., l'émulsine de ce complexe fermentaire est particulièrement active.

La technique utilisée pour recueillir le suc a été celle de cet auteur :

« On découpe avec de forts ciseaux deux spires et demie de la coquille et on s'arrête à ce niveau en coupant la columelle. L'animal ainsi débarrassé d'une partie de sa coquille est saisi d'une main par son pied et de l'autre par le reste de coquille; par une légère traction on détache le muscle columellaire et le tube digestif apparaît sur une partie comprise entre le bulbe buccal et l'hépatopancréas. On le soulève à l'aide d'une sonde cannelée et par une légère traction il se rompt *toujours* au niveau de l'hépatopancréas. Avec un peu d'adresse on arrive facilement à égoutter le suc digestif dans une éprouvette surmontée d'un entonnoir sans qu'il soit souillé par le mucus ou le sang.

(*) Un essai témoin fait sur une suspension de poudre fermentaire à 1 p. 100 cm³. d'eau distillée avait démontré l'inactivité de ce ferment sur la lumière polarisée et l'absence de réduction sensible de la liqueur cupro-alcaline.

Pour avoir du suc pur il est nécessaire de laisser les animaux à jeun pendant quelques jours et de les laver tous les jours afin de les débarrasser de leurs excréments dont ils ingèrent à nouveau les particules qui ont résisté à la digestion ».

Les escargots de Bourgogne utilisés ont été pris en état d'hibernation. Débarrassés de l'épiphragme qui ferme leur coquille, ils sont maintenus en atmosphère humide à la température du laboratoire (+ 20° environ). Ils ne tardent pas à se réveiller et sortent de leur coquille, le volume du suc sécrété atteint alors 3 à 4 fois celui de l'animal operculé, ce dernier en possédant peu.

Le suc ainsi recueilli est pur, exempt de sang et de mucus, assez fluide ; par animal on en obtient environ 0 cm³,5. Il est recueilli sous toluène.

D'autre part l'hépto-pancréas est isolé, énucléé de la membrane qui l'enveloppe et broyé ; on utilise la bouillie obtenue.

Suc digestif.

2 cm³. de suc digestif sont ajoutés à 70 cm³. d'une solution de verbénaloside à 1 g. p. 100 cm³. ; après addition de 2 cm³. de toluène, le flacon est placé à l'étuve à 33°. Un témoin contenant 2 cm³. de suc digestif, 2 cm³. de toluène et 70 cm³. d'eau distillée, est maintenu également à l'étuve.

24 heures après, les solutions, examinées après défécation au réactif de COURTONNE et au phosphate disodique, indiquent

<i>Solution de verbénaloside</i>		<i>Témoin</i>
au départ	$\alpha = - 3^{\circ}36'$	$= 0 \text{ (} l = 2 \text{)}$
24 heures après	$= + 15'$	$= 0 \text{ (} l = 2 \text{)}$

(chiffres rapportés aux liquides non déféqués).

Hépto-pancréas.

2 g. de bouillie d'hépto-pancréas sont ajoutés à 70 cm³. de solution de verbénaloside à 1 g. p. 100 cm³. Après addi-

tion de 2 cm³. de toluène, on met à l'étuve. Un témoin sans verbénaloside est placé dans des conditions identiques.

24 heures après, les solutions examinées après défécation au réactif de COURTONNE et au phosphate disodique, indiquent :

<i>Solution de verbénaloside</i>		<i>témoin</i>
au départ	$\alpha = - 3^{\circ}36'$	$= 0 \quad 1 = 2$
24 heures après	$= + 19'$	$= 0$
(chiffres rapportés aux liquides non déféqués)		

Les solutions d'hydrolyse par le suc digestif et la bouillie d'hépatopancreas sont beaucoup plus foncées que les solutions témoins. Simplement filtrées et additionnées de perchlorure de fer au dixième, elles donnent un trouble lie de vin, très net dans les deux cas ; dans les mêmes conditions, le liquide témoin du suc digestif ne se trouble pas, et celui de l'hépatopancreas donne un précipité grisâtre.

L'hydrolyse du verbénaloside par ces deux produits diastatiques est complète et très rapide. Une oxydase colore le verbénalol, ce dernier est facilement mis en évidence dans les liqueurs d'hydrolyse par addition de perchlorure de fer.

2. — VITESSE COMPARATIVE DE CES DIVERS FERMENTS SUR L'HYDROLYSE DU VERBÉNALOSIDE

Les trois sources fermentaires les plus actives sur le verbénaloside sont : le suc digestif d'*Helix pomatia* L.,
l'émulsine des amandes,
la géosidase.

Dans l'essai suivant, j'ai comparé la rapidité d'hydrolyse de ces trois mélanges fermentaires sur le verbénaloside.

Sur une solution de verbénaloside à 1 g. p. 100 j'ai fait agir simultanément ces trois diastases.

1.	Suc digestif d' <i>Helix pomatia</i> L. (*)	0 cm ³ ,50
	Solution de verbénaloside à 1 p. 100	50 cm ³ .
	Toluène	2 cm ³ .
2.	Emulsine des amandes	0 g., 25
	Solution de verbénaloside à 1 p. 100	50 cm ³ .
	Toluène	X gttes
3.	Géosidase	0 g., 50
	Solution de verbénaloside à 1 p. 100	50 cm ³ .
	Toluène	X gttes

les 3 flacons sont placés à l'étuve à 33° et agités très fréquemment. Après un temps déterminé, les solutions sont déféquées au réactif de COURTONNE et au phosphate disodique, et examinées au polarimètre.

Dans le tableau suivant, tous ces essais sont portés, ainsi

(*) Ce suc digestif d'Escargot donnait un extrait sec à 100° de 0 gr., 1851 et une teneur en cendres de 0 gr., 0068 par cm³.

Hydrolyse du verbénaloside par divers ferments

Sol. à 1 g. p. 100 cm ³ — Déviation initiale : — 3°36' déviation théorique après hydrolyse : + 9'										
SOURCE FERMENTAIRE	DURÉE DE L'EXPÉRIENCE									
	1 h	3 h.	6 h.	24 h.	2 j.	6 j.	12 j.	22 j.	40 j.	430 j.
Suc digestif d' <i>Helix pomatia</i> (1 cm ³ p. 100 cm ³).....	— 1° + 10'									
Emulsine des amandes (0 g, 50 p. 100 cm ³).....	— 49'	— 20' + 13'								
Emulsine de <i>Ster. nigra</i> (*)	— 3°					— 20' + 20'	— 2°56' + 20'	— 2°32'		
Géosidase (1 g. p. 100 cm ³).....										
Poudre ferment. de <i>Ster. nigra</i> (1 g. p. 100 cm ³).....							— 5' + 21'			
Poudre ferm. de <i>Verb. officinalis</i> (1 g. p. 100 cm ³).....										
Rhamnodiastase (0 g., 20 p 100 cm ³)..							— 3°		— 2°47'	— 27'

(*) L'hétéroside a été dissous directement dans la solution d'émulsine de *Sterigmatocystis nigra*.

que ceux des autres ferments employés. (Chiffres rapportés au liquide non déféqué).

Conclusions. — Ainsi, en trois heures, l'hydrolyse du verbénaloside est obtenue par le suc digestif d'Escargot, en 24 heures par l'émulsine des amandes, en douze jours par la géosidase.

3. — RECHERCHE DE L'ACTIVITÉ FERMENTAIRE DE LA POUDRE DE VERBENA OFFICINALIS L.

Un gramme de poudre fermentaire de *Verbena officinalis* L. (*) est mis en contact avec 50 cm³. de solution d'hétéroside ou d'hétéroside.

L'hétéroside à hydrolyser est en solution à 1 p. 100.

Essais faits par L. BOURDIER

Solution à 1 p. 100	Déviati on initiale	Déviati on après action de la poudre fermentaire (48 heures à 32° — 35°)
Eau thymolée	$\alpha = 0$	$\alpha = 0$
Saccharose	+ 1°20'	— 26'
Amygdal oside	— 42'	— 20'
Salicoside	— 1°20'	— 38'

Essais personnels

Sol. à 1 p. 100	Déviati on			
	initiale	après 5 jours	après 15 jours	après un mois
Eau toluénée	0	0	0	0
Salicoside	— 1°20'			— 41' (**)
Vicioside	— 14'	— 8'		+ 5'
Picéoside	— 1°53'	— 1°31'		— 50'
Verbénal oside	— 3°37'	— 3°32'	— 2°57'	— 2°45' (***)
Méthylglucoside α	+ 2° 9'	+ 3° 9'	+ 3° 7'	+ 3° 9'
Méthylglucoside β	— 36'	— 23'		— 17'
Méthylmannoside α ..	+ 1°36'	+ 1°38'		+ 1°36'

(*) Pour la préparation de la poudre fermentaire v. p. : 122.

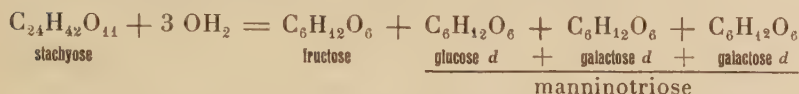
(**) Cette expérience, prolongée 50 jours, donnait à cette date $\alpha = + 20'$, chiffre théorique pour l'hydrolyse totale : + 39'

(***) V. l'action détaillée de la poudre fermentaire sur cet hétéroside p. : 122.

Action sur le stachyose et le manninotriose. — Les tiges et les racines du *Verbena officinalis* L. renferment à certaines époques de l'année du stachyose. (*).

La poudre fermentaire de la même plante est-elle capable d'hydrolyser ce sucre ?

La constitution de ce sucre est la suivante :



L'invertine le dédouble en fructose et manninotriose, l'émulsine s'attaquant ensuite lentement au manninotriose ; les acides forts dilués l'hydrolysent complètement.

D'une solution de stachyose à 1 g. p. 100, ayant une déviation $\alpha = + 2^{\circ}40'$ ($[\alpha]^D = + 133^{\circ}$) j'ai fait deux parts. Sur la première j'ai fait agir 1 p. 100 de poudre fermentaire, sur la seconde d'abord l'invertine pendant 48 heures, puis après destruction de ce premier ferment, sur le manninotriose formé j'ai fait agir la poudre fermentaire.

Poudre fermentaire		après invertine	
au départ : $\alpha = + 2^{\circ}40'$		$\alpha = + 1^{\circ}48'$ (**)	
	Poudre fermentaire	Poudre fermentaire	Poudre fermentaire
			+ CH ₃ COOH
			(0 cm ³ , 15 p. 100)
			(***)
4 ^e jour :	+ 1 ^h 4'	+ 1 ^h 20'	+ 1 ^h
11 ^e jour :	+ 40'	+ 40'	+ 40'

La poudre fermentaire de Verveine officinale hydrolyse le stachyose en lévulose et manninotriose, puis s'attaque à ce dernier sucre.

CONCLUSIONS.

La poudre fermentaire de *Verbena officinalis* L. contient de l'invertine et une glucosidase β peu active. Elle dédou-

(*) V. p. : 164.

(**) La rotation primitive $+ 2^{\circ} 40' \times 0,689$ (coefficient hydrolytique du stachyose par rapport à l'invertine) donne $\div 1^{\circ} 50'$, v. aussi p. : 166.

(***) J. VINTILESCO [107] a montré que des traces d'acide acétique accélèrent l'hydrolyse fermentaire de ce sucre.

ble le stachyose en fructose et manninotriose puis hydrolyse ce dernier sucre. Elle n'a pas d'action sur les glucosides α et mannosides α .

4. — ORIGINE DE L'ANHYDRIDE CARBONIQUE DÉGAGÉ AU COURS DE L'HYDROLYSE PAR L'ÉMULSINE

Rapprochons trois faits expérimentaux :

1° Au cours de l'hydrolyse du verbénaloside par l'émulsine le liquide et le ferment se colorent en noir si l'opération se fait en présence d'air ; dans le vide, au contraire, ils conservent leurs couleurs primitives (*). Ce fait est dû à la fixation de l'oxygène de l'air sur le verbénalol par l'oxydase contenue dans l'émulsine.

2° Si, dans une ampoule scellée, du verbénaloside est dédoublé par l'émulsine en présence d'air, et que l'on recueille les gaz après rupture de l'ampoule on constate une forte proportion d'anhydride carbonique absorbable par une lessive alcaline. (**)

3° Au cours de l'hydrolyse sulfurique prolongée de cet hétéroside, il se produit un dégagement d'anhydride carbonique correspondant quantitativement au départ d'un carboxyle de la molécule. (***)

Les expériences rapportées dans le présent chapitre ont pour but de préciser l'origine de l'anhydride carbonique se dégageant au cours de l'hydrolyse du verbénaloside par l'émulsine. S'agit-il d'une oxydation du verbénalol avec dégagement de CO_2 (phénomène classique dans l'oxydation de certains phénols tels que le pyrogallol par la lac-

(*) V. p. : 117.

(**) V. p. : 117.

(***) V. p. : 51 et p. : 94, le même phénomène obtenu à partir de l'acide verbénalosidique.

case), ou d'une décarboxylation comme fait l'action prolongée de l'acide sulfurique ?

Afin de vérifier l'une ou l'autre de ces deux hypothèses, j'ai utilisé la technique employée par G. BERTRAND [2] dans ses recherches sur la laccase et par J. RABATÉ dans l'étude de la poudre fermentaire de *Salix purpurea* [92].

(*)

Six ballons en verre, d'une contenance de 75 à 80 cm³., sont munis d'un bouchon en verre rodé portant un robinet tenant le vide.

Dans chacun, on place 0 g., 10 d'émulsine et on mesure 8 cm³. de la solution suivante :

verbénalosite	2 g.,
eau chauffée dans le vide pour chasser les gaz	
dissous q. s. p.	50 cm ³ .

Les rodages sont aussitôt soudés avec de la cire de Golaz. Après un séjour de quinze minutes à la pression et à la température du laboratoire jusqu'à équilibre, les ballons sont alors fermés. Le vide est fait à la trompe à mercure, d'abord dans la canalisation, puis, le robinet étant ouvert dans le ballon. Le gaz est recueilli et mesuré ; on a ainsi le volume du gaz contenu dans le ballon. Puis le robinet étant fermé, le ballon est séparé de la canalisation.

Le vide est maintenu dans les quatre premiers ballons, les n^{os} 5 et 6 sont ouverts pour laisser entrer l'air, puis refermés. Tous sont ensuite soumis à une agitation continue par un moteur hydraulique durant un mois.

Ce temps écoulé, on extrait les gaz dans tous les ballons et on les analyse. Les résultats expérimentaux sont portés dans le tableau suivant (volumes ramenés à 0° et 760 mm.).

Il s'est produit une rentrée d'air très faible dans les ballons n^{os} 2, 3, 4, plus importante dans le n^o 1. La coloration

(*) M. J. RABATÉ m'a amicalement prêté le matériel lui ayant servi pour ses expériences. Je l'en remercie cordialement.

N ^o du ballon	Vol. gazeux total en cm ³ .	CO ₂ cm ³ .	O ₂ cm ³ .	Coloration (émulsine et liquide)
1	15,5	4,5		jaune brunâtre
2	1	0,8		jaune très clair
3	2,2	1,3		id.
4	2,4	1,5		id.
5	63,6	15,3	1,5	brune
6	63,3	15,7	0	brune

de la solution et de l'émulsine est proportionnelle à la quantité d'air se trouvant dans le ballon.

Examinons les ballons 5 et 6 et calculons la quantité d'oxygène se trouvant dans le volume total d'air mis dans le ballon et la quantité de CO₂ correspondant à ce même volume, (tout O₂ étant transformé en CO₂) on trouve :

Ballon 5 — 63 cm³,6 d'air contient 14 cm³,7 d'O₂ fournissant 14 cm³,7 de CO₂

Ballon 6 — 63 cm³,3 d'air contient 14 cm³,7 d'O₂ fournissant 14 cm³,7 de CO₂.

Or les chiffres de CO₂ trouvés sont 15 cm³,2 et 15 cm³,7. De plus, alors que dans le ballon 5 il reste 1 cm³,35 d'O₂, dans le ballon 6 il a entièrement disparu.

Il y a donc eu fixation totale d'O₂ par l'oxydase sur le verbénalol et dégagement du volume correspondant en CO₂.

Faisons le même calcul pour les 4 autres ballons, nous trouvons :

N^o 1 — 15 cm³, 5 air → 3 cm³, 3 O₂ → 3 cm³, 3 CO₂, chiffre trouvé : 4 cm³, 5
 N^o 3 — 2 , 2 » → 0 cm³, 46 O₂ → 0 cm³, 46 CO₂, chiffre trouvé : 1 cm³, 3
 N^o 4 — 2 , 4 » → 0 cm³, 5 O₂ → 0 cm³, 5 CO₂, chiffre trouvé : 1 cm³, 5

Quant au n^o 2, contenant 1 cm³. de gaz, tout est sensiblement absorbé par la soude, il n'y a donc guère que du gaz carbonique.

Dans tous les cas, le rapport $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ est égal ou légèrement

supérieur à 1.

La présence du CO_2 produit au cours de l'hydrolyse du verbénaloside par l'émulsine provient d'une fixation de l'oxygène de l'air sur le verbénalol avec dégagement correspondant d'anhydride carbonique. Cette action est due à l'oxydase du complexe fermentaire que constitue l'émulsine.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

RÉPARTITION DANS LA PLANTE DU VERBÉNALOSIDE, AINSI QUE DES AUTRES GLUCIDES

- I. - Technique des essais biochimiques.
- II. - Indice de réduction enzymolytique du verbénalosite.
- III. - Calcul des résultats.

I. — TECHNIQUE DES ESSAIS BIOCHIMIQUES

La méthode biochimique d'EM. BOURQUELOT [10-11] est devenue classique, je n'insisterai pas sur sa théorie et son emploi. A. MEUNIER a publié en 1933 [80] un important travail sur ce sujet ; en 1935 N. WATTIEZ et F. STERNON [108]) dans leur traité de « Chimie Végétale », la décrivent en détail, je renvoie à ces livres ceux qui désireraient l'étudier.

Je décrirai par contre la technique telle que je l'utilise, les détails ayant ici une grande importance.

Dès l'arrivée des échantillons au laboratoire, les plantes sont triées, les racines débarrassées de la terre et pesées. La quantité employée (généralement 300 g.) est stabilisée par immersion rapide dans l'alcool à 85° bouillant (8 fois le poids de la plante) et maintenue à cette température pendant 30 minutes. Après refroidissement, le liquide est décanté, les plantes égouttées sont broyées au hachoir : ces opérations se font avec précaution, afin de ne pas perdre de liquide d'épuisement. Les parties hachées sont remises avec de l'alcool extractif dans le ballon ayant servi à la stabilisation. Les ustensiles (hachoir, capsules, entonnoir) sont lavés avec un peu d'alcool qui est ajouté au liquide précédent. On reporte à l'ébullition que l'on maintient à reflux pendant 30 minutes. Après refroidissement, le ballon est agité pour mettre la plante hachée en suspension dans l'alcool et le tout est versé sur une toile placée au-dessus d'un entonnoir. Le marc égoutté et pressé, le liquide est joint aux liqueurs filtrées. On épuise à nouveau par 5 fois

le poids de la plante employée d'alcool à 85° pendant le même temps que précédemment. Nouvelle expression dans la toile ayant déjà servi. Les liqueurs alcooliques sont réunies, les ustensiles lavés soigneusement à l'alcool. Cet alcool de lavage est joint aux liqueurs d'épuisement, le tout est concentré dans le vide jusqu'à extrait ferme en présence de 1 p. 100 du poids de la plante de carbonate de calcium. Toutes ces précautions sont indispensables afin d'obtenir un extrait contenant la totalité des principes glucidiques de la plante solubles dans l'alcool.

L'extrait est repris *immédiatement* par de l'eau bouillante de telle façon qu'un cm³ de liquide corresponde à 1 g. de plante fraîche. Cette solution est additionnée de 1 cm³. de toluène (*) et laissée en contact pendant 24 heures en ayant soin d'agiter fréquemment le flacon bien bouché contenant la solution.

La chlorophylle mêlée au carbonate de calcium précipite ou adhère aux parois du flacon. La liqueur filtre alors facilement. Cette solution est répartie en deux flacons ; l'un additionné seulement de toluène sert de témoin (**); sur l'autre j'ai fait agir successivement : l'invertine, puis l'émulsine ; et, l'échantillon étant divisé en deux, une partie est soumise à la géosidase, l'autre à la poudre fermentaire de la plante essayée (***). Les flacons sont maintenus à l'étuve à 33°, agités fréquemment chaque jour.

(*) L'addition de toluène a pour but d'empêcher l'action hydrolysante des bactéries sur les glucides.

(**) La rotation polarimétrique et la teneur en sucres réducteurs de cet essai, examinées à la fin de l'expérience ne doivent pas avoir changé.

(***) 1. — Pour la préparation des poudres fermentaires v. p. 122.
2. — L'invertine, la géosidase, la poudre fermentaire sont employées dans la proportion de 1 gr. p. 100 cm³. l'émulsine de 0 gr., 50 p. 100 cm³.

3. — On arrête l'action d'un ferment lorsque, examinée à 4 jours d'intervalle, la solution présente à nouveau même déviation et même teneur en sucres réducteurs.

4. — Chacun de ces ferments est détruit, avant l'emploi du suivant, par un chauffage de 15 minutes à 100°. Le poids du flacon est vérifié semblable avant et après cette opération.

5. — On utilise pour ces essais des flacons en verre neutre, lavés à l'eau distillée et séchés à l'étuve. Les bouchons de liège fin sont stéri-

A chaque essai, un échantillon de 50 g. de plante, mis à l'étuve à 33° jusqu'à poids constant, a donné la teneur en matière sèche.

lisés par un séjour de 20 minutes dans l'eau bouillante et séchés à l'étuve. Pour éviter toute concentration des liqueurs par évaporation, les flacons bouchés sont paraffinés.

6. — Pour le dosage des sucres réducteurs, j'ai toujours utilisé la méthode de MOHR-BERTRAND [83-3].

II. — INDICE DE RÉDUCTION ENZYMOLYTIQUE DU VERBÉNALOSIDE

C'est EMILE BOURQUELOT qui en 1910 [11] a donné la notion d'indice de réduction enzymolytique. Il désigne sous ce nom le poids, en milligrammes de produits réducteurs, exprimés en glucose, formés dans 100 cm³. sous l'influence de l'émulsine (pour les hétérosides), d'invertine (pour le saccharose ou les holosides ayant un noyau de saccharose) pour un retour de un degré polarimétrique observé à l'aide du tube de deux décimètres. Cette déviation ayant lieu vers la droite pour les glucosides dédoublables par l'émulsine, vers la gauche pour les holosides hydrolysables par l'invertine. L'indice est caractéristique de l'hétéroside ou de l'holoside.

Le calcul de cet indice est très important pour la recherche de l'hétéroside dont on étudie la répartition dans les différentes parties d'une plante, dans les variations saisonnières dans la même plante ou dans l'identification de ce corps dans d'autres espèces végétales.

Pour un glucoside non réducteur, ne donnant que du glucose comme produit réducteur, on peut employer la formule donnée par Em. BOURQUELOT :

$$q = \frac{100 \text{ g}}{2 R_m + 105 \text{ g}}$$

Dans laquelle

m = poids moléculaire de l'hétéroside

$R = [\alpha]_D$

g = poids de glucose fourni par une molécule d'hétéroside.

Mais pour le verbénaloside le problème est plus com-

pliqué ; en effet, cet hétéroside et les deux produits formés au cours de hydrolyse sont réducteurs et actifs sur la lumière polarisée.

En 1910, la constitution du verbénaloside n'étant pas suffisamment connue, EM. BOURQUELOT [11] donnait pour ce corps un indice de **19**, établi, ajoute-t-il, expérimentalement (*).

Dans d'autres travaux, EM. BOURQUELOT et Mlle A. FICHTENHOLZ [15] ont étudié l'arbutoside, hétéroside se dédoublant en glucose et hydroquinol, tous deux corps réducteurs.

Ces auteurs ont vu que le pouvoir réducteur de l'hydroquinol augmente rapidement avec la concentration des solutions et que pour utiliser l'indice de réduction enzymolytique (**700**) donné, il faut se placer dans des conditions de dilution assez étroites. Verbénaloside et verbénalol étant réducteurs, il importe de savoir si leurs pouvoirs sont constants ou si, comme pour l'hydroquinol, ce caractère augmente avec la concentration et n'est pas parallèle au pouvoir réducteur du glucose.

J'ai été amené à faire les essais suivants :

1° *Verbénaloside*. Sur une solution :

verbénaloside (6° crist.)	0 g.,2700
eau distillée q. s. p.	25 cm3.

4 dosages par la méthode de MOHR-BERTRAND sont effectués.

Prise d'essai		Poids de cuivre en mg.	Résultats exprimés en glucose en mg.
Solution en cm3.	verbénaloside en mg.		
2	21,6	37,78	18,83
4	43,2	71,58	37,77
6	64,8	103,40	54,61
8	86,4	135,22	73,51

(*) Cet indice a été probablement calculé sur l'essai biochimique n° 4 [8] de la thèse de L. BOURDIER rapporté à la page : 169.

Si on multiplie le premier chiffre trouvé, indiqué en glucose, par 2, 3 et 4, comme sont entre elles les prises d'essai, nous obtenons :

18,83 au lieu de 18,83 chiffres expérimentaux				
37,66	«	37,77	«	«
54,99	«	54,61	«	«
73,32	«	73,31	«	«

La concordance est suffisante pour qu'on puisse dire que malgré la dilution le pouvoir réducteur du verbénaloside est constant.

2° *Verbénalol*

verbénalol crist. dans l'acide acétique. 0 g.,1035
 eau distillée q. s. p. 50 cm3.

Sur cette solution 4 dosages de MOHR-BERTRAND ont donné :

Prise d'essai		Poids de cuivre en mg.	Résultats exprimés en glucose en mg.
Solution en cm3	verbénalol en mg.		
5	10,35	18,89	9,15
10	20,70	38,77	19,33
15	31,05	58,66	29,77
20	41,40	73,57	37,86

Si on multiplie le premier chiffre trouvé exprimé en glucose par 2, 3 et 4 comme sont entre elles les prises d'essai, on obtient :

9,15 au lieu de 9,15 trouvés expérimentalement				
18,30	»	19,33	»	»
27,45	»	29,77	»	»
36,60	»	37,86	»	»

Sans qu'il y ait une différence aussi grande que pour l'hydroquinol, il faudra toujours rester pour les dosages des

produits d'hydrolyse du verbénaloside dans des conditions expérimentales voisines de l'expérience ci-dessus.

Ces quantités de verbénalol correspondent à

Verbénalol	Verbénaloside	Produits d'hydrolyse: (glucose + verbénalol) exprimés en mg. de glucose
—	—	—
10 mg.	17,1 mg.	7,9 + 8,8 = 16,7
20 »	34,2 »	15,8 + 18,6 = 34,4
30 »	51,2 »	23,7 + 28,7 = 52,4
40 »	68,4 »	31,6 + 36,5 = 68,1

En utilisant les chiffres théoriques et expérimentaux indiqués à propos de l'hydrolyse du verbénaloside par l'émulsine (*) il est possible de calculer un indice enzymolytique théorique et expérimental.

Dans l'hydrolyse théorique pour un retour de 3°45', il apparaît 130 mg., 50 de glucose soit un indice de **34**.

Dans l'expérience type pour un retour de 3°52', il se forme 53 mg., 3 de glucose soit un indice de **13**.

Ces différences proviennent de la fixation du verbénalol, par l'émulsine, d'où augmentation du pouvoir rotatoire (le verbénalol est lévogyre) et diminution du pouvoir réducteur.

Pour avoir un indice enzymolytique correspondant à la réalité, il y aurait lieu de ne pas utiliser comme réactif défécant le sous-acétate de plomb. On a vu (**) que ce corps précipite légèrement le verbénaloside, change le sens du pouvoir rotatoire du verbénalol qui de gauche devient droit et diminue le pouvoir réducteur de ce dernier corps. Ces modifications diminuent la quantité de matières réductrices formées et augmentent la rotation dextrogyre terminale, par suite abaissent l'indice enzymolytique qui peut devenir égal à zéro.

(*) V. p. : 120.

(**) V. p. : 32 et p. : 72.

L'acétate neutre de plomb n'a pas ces inconvénients (*), mais il précipite mal les substances tanniques des extraits végétaux et donne des liqueurs troubles et inutilisables au polarimètre. D'autres réactifs défécants ne m'ayant pas donné de meilleurs résultats, j'ai été obligé, dans les nombreux essais biochimiques qui vont suivre, de recourir au sous-acétate de plomb. A vrai dire, cela n'est pas un inconvénient, car il accentue le caractère spécial de l'indice du verbénaloside en le faisant tendre vers zéro ou même l'égaliser.

Dans les essais des chapitres suivants, il ne faudra pas être trop strict quant à cet indice ; lorsqu'il est compris entre **0** et **30** on peut admettre qu'il s'agit du verbénaloside. Actuellement un seul glucoside connu, l'unédoside, semble avoir un indice se rapprochant de celui du verbénaloside [**31**].

(*) V. p. : 31 et p. : 72.

III. — CALCUL DES HOLOSIDES ET DU VERBÉNALOSIDE DANS LES ESSAIS BIOCHIMIQUES

1/ *Ose initial.*

Les matières réductrices initiales comprennent : le verbénaloside et des oses. A la fin de l'essai, on connaît la quantité de verbénaloside contenue dans la plante. Sachant que 1 g. de verbénaloside possède le même pouvoir réducteur que 0 g.,906 de glucose, on peut calculer le glucose correspondant et par suite les oses initiaux.

2/ *Holoside dédoublable par l'invertine.*

On peut l'exprimer en mg. de sucre réducteur (en glucose) apparu sous l'action de ce ferment. S'il s'agit du saccharose on a une représentation sensiblement exacte, le pouvoir réducteur du sucre interverti étant très voisin de celui du glucose. Pour le stachyose trouvé dans certaines parties de la Verveine, on pourrait le calculer en multipliant le lévulose obtenu par l'invertine par 3,7 pour avoir le stachyose anhydre, ou par 4,1 pour avoir le stachyose cristallisé.

$$\begin{array}{l} \text{Stachyose, } 4 \text{ OH}_2 \rightarrow \text{lévulose} \times 3,7 \rightarrow \text{stachyose anhydre} \\ \frac{666 + (4 \times 18)}{738} \rightarrow 180 \times 4,1 \rightarrow \text{stachyose crist à } 4 \text{ OH}_2. \end{array}$$

Mais comme on n'est jamais certain qu'il n'y ait que du stachyose, j'ai indiqué seulement le sucre réducteur (en glucose) fourni par l'invertine.

3/ *Verbénaloside.*

On ne peut le calculer que d'après le retour de la déviation sous l'action de l'émulsine. D'après les chiffres trouvés au cours des hydrolyses (*), une solution de verbénaloside à 1 g p. 100 cm³ donne, après hydrolyse fermentaire, un retour de $-3^{\circ}36'$ à $+9'$. Un g. de verbénaloside correspond donc à un retour de $3^{\circ}45'$ ou de $3^{\circ},75$.

(*) V. p. : 120.

CHAPITRE II.

A. — VERBENA OFFICINALIS L.

§ 1.

Etude comparative des différentes parties du VERBENA OFFICINALIS L , au point de vue glucidique.

Extraction du stachyose des racines et des tiges du VERBENA OFFICINALIS L.

A. — VERBENA OFFICINALIS L.

I. — Etude comparative des différents organes de VERBENA OFFICINALIS L. au point de vue glucidique :

- 1/ *oses initiaux*,
- 2/ *holosides*,
- 3/ *verbénalosite*.

Cette étude a été réalisée au mois de septembre, seul mois de l'année permettant de récolter sur la même plante :

racines,
tiges,
feuilles,
bourgeons floraux,
fleurs,
fruits verts,
et graines.

Ces essais ont été complétés par l'étude de jeunes plantes de quelques centimètres cueillies au mois de juillet.

Tous les prélèvements ont été effectués sur des pieds de Verveine provenant de la station créée à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles, éliminant ainsi les causes d'erreur dues aux terrains différents et à l'âge dissemblable des pieds traités.

Voici les différents essais :

RACINES, septembre 1935.

— Matière sèche p. 100 : 29,4.

	Déviatiou l = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm3.
	—	—
Au départ	+ 5°13'	0g.,4917
Après invertine	+ 3°24'	1g.,7760
Après émulsine 3 ^e jour :	+ 3°51'	1g.,8060
30 ^e jour :	+ 2°25'	2g.,5024
45 ^e jour :	+ 2°12'	2g.,5845
60 ^e jour :	+ 1°59'	2g.,8149

Par invertine

recul	1°49'
sucré formé	1g.,2843
INDICE	706

Par émulsine :

au 3^e jour :

retour	27'
sucré formé	0g.,0300
INDICE	66

au 60^e jour :

recul	1°52'
sucré formé	1g.,0389

Interprétation des résultats.

1. — Ose initial : 0 g., 3871.

2. — L'hydrolyse par l'invertine donne un indice de **706** assez voisin de celui du saccharose **603**. Mais l'action de l'émulsine nous prouve qu'il ne s'agit pas de ce sucre. Ce deuxième dédoublement est complexe, il y a superposition de deux phénomènes. D'abord hydrolyse d'un hétéroside avec retour de la déviation vers la droite puis attaque d'un holoside non touché par l'invertine et recul vers la gauche, les matières réductrices

augmentant régulièrement durant ces fluctuations polarimétriques (*).

J'ai pu extraire du stachyose cristallisé à partir des racines de Verveine officinale. (**).

3. — Verbénalosite p. 100 : 0 g., 1155.

(*) L'invertine n'hydrolyse qu'en partie certains holosides complexes (stachyose, raffinose, gentianose, etc...) c'est l'émulsine qui achève de scinder ces glucides en leurs oses constituants.

(**) V .p. : 164.

TIGES, septembre 1935.

Tiges privées de la hampe florale.

Matière sèche p. 100 : 24,5.

	Déviatiôn 1 = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm ³ .
	—	—
Au départ	+ 1° 17'	0g.,3553
Après invertine	+ 42'	0g.,8498
Après émulsine 3 ^e jour :	+ 1° 6'	0g.,8600
30 ^e jour :	+ 44'	1g.,1206
45 ^e jour :	+ 40'	1g.,1690
60 ^e jour :	+ 40'	1g.,1800
Par invertine :		
recul		35'
sucré formé		0g.,4945
INDICE		847
Par émulsine :		
au 3 ^e jour :		
retour		24'
sucré formé		0g.,0102
INDICE		25
au 60 ^e jour :		
recul		26'
sucré formé		0g.,3302

Interprétation des résultats.

1. — Ose réducteur initial : 0 g., 2588.

2. — Holoside dédoublable par l'invertine d'indice : 847 : 0 g., 4945. Par action de l'émulsine, comme pour les racines (*) il y a dédoublement du verbénaloside puis d'un holoside complexe touché partiellement par l'invertine. Sur cette indication, j'ai pu extraire du stachyose cristallisé à partir des tiges de Verveine (**).

3. — Verbénaloside : 0 g., 1066.

(*) V. p. : 154.

(**) V. p. : 164.

FEUILLES, septembre 1935.

— Matière sèche p. 100 : 22.

	Déviati on l = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm3.
	—	—
Au départ	— 44'	0g.,3498
Après invertine	— 46'	0g.,6400
Après émulsine	+ 22'	0g.,6472
Par invertine :		
recul		2'
sucre formé		0g.,2902
INDICE		8706
Par émulsine :		
retour		1°8'
sucre formé		0g.,0072
INDICE		6

Interprétation des résultats.

1. — Ose réducteur initial : 0 g., 0761.

2. — Holoside dédoublable par l'invertine d'indice très élevé : 8706, 0 g., 2902.

3. — Par l'émulsine, le phénomène est simple, la rotation et le sucre réducteur augmentent tous les deux régulièrement et se stabilisent.

Il n'y a donc pas de stachyose dans les feuilles. L'indice : 6 est caractéristique du verbénalosite. Quantité de ce corps p. 100 cm3; : 0 g., 3021.

BOURGEON FLORAL, septembre 1935.

— Sous le nom de bourgeon floral, je désigne la partie supérieure de la hampe florale, longue d'environ un centimètre, située au-dessus des fleurs écloses. Il comprend en septembre vers la fin de la floraison en moyenne dix boutons floraux et un fragment de hampe de poids négligeable.

— Nombre de bourgeons floraux au gramme : 67.

— Matière sèche p. 100 : 26.

	Déviati 1 = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm3.
	—	—
Au départ	— 9°10'	2g.,8202
Après invertine	— 9°14'	3g.,0910
Après émulsine	+ 20'	3g.,3176

Par invertine :

recul	4'
sucré formé	0g.,2708
INDICE	4062

Par émulsine :

retour	9°34'
sucré formé	0g.,2276
INDICE	23

Interprétation des résultats.

1. — Ose initial : 0 g., 5091.
2. — Holoside à indice élevé (4062) : 0 g., 2708.
3. — Verbénaloside p. 100 : 2 g., 5509.

FLEURS, septembre 1935.

— Le nombre très faible des fleurs se trouvant sur la hampe florale au même moment (2 à 3 en moyenne) et leur très faible poids (750 fleurs = 1 g.) font de cette cueillette un travail long et minutieux.

— Cet essai biochimique a porté sur 50 grammes.

— Matière sèche p. 100 : 20.

	Déviati 1 = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm3
Au départ	— 1°32'	3g.,3126
Après invertine	— 3°25'	3g.,6942
Après émulsine	— 42'	3g.,7092
Par invertine :		
recul		1°53'
sucre formé		0g.,3816
INDICE		193
Par émulsine :		
retour		2°43
sucre formé		0g.,0150
INDICE		5

Interprétation des résultats.

1.— Ose réducteur initial : 2 g., 6565 (quantité considérable).

2. — Holoside hydrolysable par l'invertine : 0 g., 3816 d'indice 193.

3. — Par l'émulsine, un hétéroside en quantité assez importante (retour : 2°43') d'indice : 5, correspondant au verbénaloside.

Le changement de déviation se faisant constamment vers la droite :

— 1°54'	le 3 ^e jour,
— 1°46'	le 12 ^e jour,
— 1°	le 46 ^e jour,
— 42'	le 63 ^e jour,

et la non augmentation du sucre réducteur écarte la présence de stachyose dans les fleurs de Verveine officinale.

Verbénaloside p. 100 : 0 g., 7242.

FRUITS VERTS, septembre 1935.

- Essai ayant porté sur 100 g.
- Nombre de fruits au gramme : 304.
- Matière sèche p. 100 : 46,6.

	Déviatiou 1 = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm ³ .
	—	—
Au départ	— 2° 5'	0g.,8319
Après invertine	— 2° 9'	1g.,2685
Après émulsine 3° jour :	± 0	1g.,3299
60° jour :	— 33'	1g.,5510
Par invertine :		
recul		4'
sucre formé		0g.,4366
INDICE		6549
Par émulsine :		
au 3° jour :		
retour		2° 9'
sucre formé		0g.,0614
INDICE		28
au 60° jour :		
recul		33'
sucre formé		0g.,2825

Interprétation des résultats.

1. — Ose réducteur initial : 0 g., 3125.
2. — Holoside dédoublable par l'invertine d'indice très élevé (6549) avec un recul de la déviation de 33' par l'émulsine et apparition de 0g.,2825 de sucre réducteur. Comme dans les essais contenant du stachyose il y a superposition de deux phénomènes différents provenant de la co-existence de deux ou plusieurs holosides différents dans les fruits verts (stachyose et holoside à indice élevé déjà signalé).
3. — Présence de 0 g., 5733 de verbénaloside p. 100.

GRAINES, octobre 1935.

1 gr. de graines = 2860 graines.

Essai biochimique fait sur 100 g. de graines (*).

	Déviatiôn l = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm3.
	—	—
Au départ	+ 1°39'	0g.,2583
Après invertine	± 0	1g.,6111
Après émulsine	+ 50'	1g.,6563
Par invertine :		
recul		1°39'
sucre formé		1g.,3528
INDICE		819
Par émulsine :		
retour		50'
sucre formé		0g.,0452
INDICE		54
Verbénalosite p. 100 : 0 g., 2248.		

Interprétation des résultats.

1. — Ose réducteur initial en très faible quantité: 0g., 0547.

2.— Holoside dédoublable par l'invertine : 1 g., 3528, indice : **819**, assez éloigné de celui du saccharose ou du stachyose; mais dans deux autres essais opérés sur les graines de 1934 ayant servi aux semences pour mes expériences, j'ai trouvé comme indices :

en utilisant comme défécant l'acétate neutre de plomb: **620** et **590**, en utilisant comme défécant le sous-acétate de plomb : **881** et dans l'essai ci-dessus : **819**. On voit que la présence des deux sucres cités plus haut n'est pas improbable, l'indice pouvant être faussé par la présence d'un autre sucre entraîné par l'acétate neutre de plomb et non par le sous-acétate (**).

(*) La petite dimension de ces graines interdisait le broyage au moulin ou au mortier. Afin d'obtenir un épuisement satisfaisant, j'ai modifié la technique d'extraction de la façon suivante : les graines sont jetées dans deux fois et demie leur poids d'eau bouillante et maintenues pendant cinq minutes à cette température ; par refroidissement,

3. — L'émulsine met en évidence la présence du verbénalosite : 0 g., 2248 p. 100 g. de graines.

elles gonflent et absorbent tout le liquide ; elles sont alors broyées au mortier avec leur poids de sable lavé. La pâte obtenue est épuisée par de l'alcool à 97° à l'ébullition, puis la technique de préparation de l'extrait est continuée comme d'habitude (v. p. : 141).

(**) Un essai d'extraction de l'holoside existant dans ces graines a été tenté à partir de 200 gr. par la méthode à la baryte. Le précipité était insignifiant et les tentatives d'isolement sont restées vaines.

JEUNES PLANTES, juillet 1936.

— Les graines ont été récoltées sur les plantes ayant servi aux essais précédents et semées dans le même terrain sans engrais. Les plantes sont sorties très lentement, après plusieurs mois. Les pieds sont récoltés ayant environ quatre cm. pour les parties aériennes, cinq à six cm. pour les racines, celles-ci sont très garnies de radicelles.

100 pieds pèsent 38 g. à l'état frais et 8 g., 75 à l'état sec.

Matière sèche p. 100 : 23.

	Déviatiou 1 = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm3.
	—	—
Au départ	— 38'	0g.,4128
Après invertine	— 41'	0g.,5400
Après émulsine 3 ^e jour :	+ 16'	0g.,5544
5 ^e jour :	+ 34'	0g.,5800
15 ^e jour :	+ 54'	0g.,5800
30 ^e jour :	+ 54'	0g.,5800
Par invertine :		
recul		3'
sucré formé		0g.,1272
INDICE		2544
Par émulsine :		
retour		1°35'
sucré formé		0g.,0400
INDICE		25

Interprétation des résultats.

1. — Ose initial en quantité très faible : 0 g., 0304.
2. — Holoside à indice élevé (2544) : 0 g., 1272.
3. — Verbénaloside p. 100 : 0 g., 4221.

*
**

EXTRACTION DU STACHYOSE DES RACINES ET DES TIGES DU VERBENA OFFICINALIS L.

Les essais comparatifs faits en septembre sur les différentes parties de cette plante me faisaient constater dans les racines et les tiges la présence d'un holoside dédoublable par l'invertine avec un indice pas très éloigné de celui du saccharose (706 pour les racines, 847 pour les tiges), la déviation restant droite, de plus en même temps que l'hydrolyse du verbénalosite par l'émulsine un retour vers la gauche de la déviation, la quantité de sucres réducteurs continuant à augmenter.

Cela permettait d'envisager la présence d'un glucide plus complexe que le saccharose. J'ai pu confirmer cette hypothèse par l'extraction à l'état cristallisé du *stachyose*.

EXTRACTION. — *Racines*. — Un extrait alcoolique de 110 g., préparé à partir de 1250 g. de racines de Verveine cueillie le 7 novembre 1935 à Milly, a été dissous dans 10 fois son poids d'eau. La solution a été déféquée au sous-acétate de plomb (75 cm³.) et le précipité abondant éliminé par filtration à la trompe. L'excès de plomb a été éliminé par 30 cm³. d'acide sulfurique à 10 g. p. 100 cm³. Après nouvelle filtration et lavage du précipité, la liqueur claire obtenue est additionnée au mortier de 110 g. d'hydrate de baryum pulvérisé (le même poids que l'extrait). Le liquide est filtré et les 1250 cm³. de filtrat sont mélangés à 4 fois leur volume d'alcool à 85° jusqu'à cessation de précipité. Après deux jours de repos, la combinaison barytique sucrée est essorée, lavée avec 1 litre d'alcool à 85°. Elle pèse 242 g. Dissoute dans cinq fois son poids d'eau distillée, elle est décomposée par 80 cm³. d'acide sulfurique à 10 g. p. 100 cm³. Le sulfate de baryum éliminé, l'excès d'acide est neutralisé par du carbonate de calcium et le liquide filtré porté

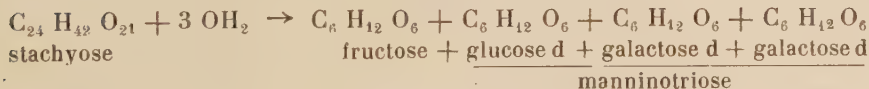
à l'ébullition. En s'aidant du vide la liqueur filtrée est distillée et l'extrait ainsi obtenu repris successivement par de l'alcool à 95° , 90° , puis 85° . L'extrait était additionné de 27 cm3. d'eau, puis dans la solution obtenue à chaud, on versait par le haut du réfrigérant par petites portions 140 cm3. d'alcool à 95° . A partir d'un certain nombre de reprises, j'ai employé les solutions mères débarrassées de leurs cristaux. La cristallisation a été surtout abondante dans les reprises par l'alcool à 85° . A la cessation de cristallisation j'ai recueilli 29 g., 60 de cristaux qui, par recristallisation dans l'alcool à 85° , m'ont donné 24 g., de produit pur.

Tiges. — La même technique a été utilisée à partir d'un extrait alcoolique de 126 g. provenant de 1168 g. de tiges privées de feuilles provenant de Versailles et de Milly (7 novembre 1935).

Poids des cristaux recueillis : 16 g. qui ont été recristallisés dans l'alcool à 85°.

CARACTÉRISATION. — J'ai identifié le sucre ainsi obtenu au stachyose ou mannéotétrose découvert par A. VON PLANTA et E. SCHULZE [91] dans les parties souterraines du *Stachys tubrifera* L. et dont la constitution a été indiquée par CH. TANRET [101].

Cette constitution est la suivante :



L'invertine le dédouble en fructose et manninotriose, l'émulsine s'attaquant ensuite lentement au manninotriose.

Ce corps cristallise avec 4,5 molécules d'OH₂ dans l'eau et 4 OH₂ dans l'alcool à 95°.

Voici les caractères trouvés pour le stachyose extrait des racines et des tiges de la Verveine officinale, ces caractères

ont été comparés à ceux de stachyose cristallisé extrait par moi des rhizomes de Crosnes du Japon.

Racines

Tiges

1. *Point de fusion* — peu net comme l'a signalé J. VINTI-LESCO [107] les cristaux s'agglutinent vers 140°, deviennent adhérents au bloc vers 170°, la masse devient pâteuse, se ramollit davantage et brunit si on élève la température.

2. Perte de poids par la chaleur.

0 g., 5034 chauffés à l'étuve à 110° jusqu'à poids constant ont perdu 0 g., 0486, la perte pour 100 est de 9,65.	0 g., 5017 chauffés à l'étuve à 110° jusqu'à poids constant ont perdu 0 g., 0457, la perte pour 100 est de 9,10.
théorie pour 4 OH₂ : 9,75 p. 100	

3. Pouvoir rotatoire.

$\alpha = + 6^{\circ}5'$, $v = 22$ cm3., $l = 2$ $p = 0$ g., 5034, $t = 21^{\circ}$ $[\alpha]_D^{21} = + 132^{\circ}92$ pour le produit cristallisé $[\alpha]_D^{21} = + 147^{\circ}13$ pour le produit anhydre au lieu de $[\alpha]_D = + 133^{\circ}$ et $[\alpha]_D = + 148^{\circ},90$	$\alpha = + 6^{\circ}43'$, $v = 20$ cm3., $l = 2$ $p = 0$ g., 5006, $t = 20^{\circ}$ $[\alpha]_D^{20} = + 134^{\circ},15$ $[\alpha]_D^{20} = + 145^{\circ},10$
---	---

4. Solution non réductrice. | Solution non réductrice.

5. Action de l'invertine.

Hydrolysée par l'invertine, la rotation de la solution obtenue a une valeur égale à la rotation primitive, multipliée par le coefficient 0,689 (*).

une solution de déviation $\alpha = + 6^{\circ}5' = + 6^{\circ},08$ traitée 48 h. par l'invertine à 33° avait une rotation de $\alpha = + 4^{\circ},2163$ Or $+ 6^{\circ},08 \times 0,689 = + 4^{\circ},1891$	une solution de déviation $\alpha = + 6^{\circ}43' = + 6^{\circ},71$ traitée 48 h. par l'invertine à 33° avait une rotation de $\alpha = + 4^{\circ},638$ Or $+ 6^{\circ},71 \times 0,689 = + 4^{\circ},623$
---	--

(*) On appelle « coefficient hydrolytique d'un sucre vis à vis d'un ferment considéré » le rapport qui existe entre la rotation polarimétrique d'une solution aqueuse de ce sucre pur et la rotation de la même solution qui a été soumise à l'action complète hydrolysante de ce ferment.

V. H. HÉRISSEY et R. SIBASSIÉ [66].

Les coefficients hydrolytiques du stachyose et du raffinose par rapport à l'invertine sont 0,689 pour le premier et 0,526 pour le second.

D'autre part la solution traitée par l'invertine était devenue fortement réductrice.

6. *Production d'acide mucique.*

L'oxydation du produit par l'acide nitrique de densité 1,15 donne naissance à des cristaux d'acide mucique, en effet ces cristaux à forme de petits prismes courts, lavés à l'eau et desséchés à 110°, fondent à + 211°, + 213° au bloc MAQUENNE, ces cristaux sont entièrement solubles dans l'ammoniaque.

Tous ces caractères sont ceux du stachyose cristallisé à quatre molécules d'eau.

INTERPRÉTATION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS

A plusieurs reprises le professeur R. COMBES s'est élevé contre le fait de rapporter à 100 g. de tissu frais ou sec les résultats trouvés dans les essais biochimiques. « Ils rendent compte, dit-il, de la variation de la concentration ou de la proportion du glucoside dans les organes étudiés et non de la variation de la quantité absolue du corps étudié. Or, c'est surtout cette dernière donnée qui est intéressante lorsqu'on veut déterminer si dans un organe un glucide se forme, s'accumule, se détruit ou émigre » [43]... « Les résultats de l'analyse chimique des organismes ne sont utilisables en biologie que lorsqu'ils sont rapportés, non à quelque chose qui varie au cours des phases de développement considérées, tels que le poids de la substance sèche ou celui de la substance fraîche, mais à quelque chose qui ne varie pas, par exemple à un nombre d'individus déterminés et choisis aussi semblables que possible entre eux : 100 graines, 100 plantules, 100 plantes. » [44].

C'est ainsi que la simple augmentation de la cellulose, phénomène habituel lors du développement des végétaux, peut faire baisser la teneur p. 100 en hétéroside alors que la quantité absolue de ce corps a continué à progresser dans la plante. Selon la façon de présenter les chiffres expérimentaux, l'interprétation des phénomènes peut devenir diamétralement opposée.

Essais comparatifs des différentes parties du VERBENA OFFICINALIS L.

	Jeunes plantes	Feuilles	Bouton floral	Fleurs	Tiges	Racines	Fruits verts	Graines
Matière sèche p. 100.....	23	22	26	20	24,5	29,4	46,6	0
Déviation l = r initiale..... après invertine..... après émulsion, 3^e jour... 60^e jour..	38' - 44' + 54'	- 44' - 46' + 22'	- 9°10' - 9°14'	- 1°32' - 3°23' - 42'	+ 1°17' + 42' + 1° 6' + 40'	+ 5°43' + 3°24' + 3°54' + 1°59'	- 2°55' - 2 9' 0 + 33'	+ 1°39' 0 25' + 50'
Matières réductrices en glucose pour 100cm³ initiales..... après invertine..... après émulsion, 3^e jour... 60^e jour...	0 g., 3128 0 g., 4400 0 g., 4800	0 g., 3498 0 g., 6400 0 g., 6472	2 g., 8202 3 g., 0910	3 g., 3126 3 g., 6942 3 g., 7082	0 g., 3553 0 g., 8498 0 g., 8600 1 g., 1800	0 g., 4917 1 g., 7760 1 g., 8060 2 g., 8149	0 g., 8319 1 g., 2885 1 g., 3299 1 g., 5510	0 g., 2583 1 g., 6111 1 g., 6563 1 g., 6563
Par invertine recul..... sucre formé... indice.....	3' 0 g., 1272 2544	2' 0 g., 2902 8706	4' 0 g., 2708 4062	1°53' 0 g., 3846 193	35' 0 g., 4945 847	1°49' 1 g., 2843 706	4' 0 g., 4366 6549	1°39' 1 g., 3528 849
Par émulsion retour..... sucre formé... indice.....	1°33' 0 g., 0400 25	1°8' 0 g., 0072 6	9°34' 0 g., 2276 23	2°43' 0 g., 0150 5	24' 0 g., 0102 25	27' 0 g., 030 66	2°9' 0 g., 0614 28	50' 0 g., 0452 54
Verbénalosite p. 100 g.....	0 g., 4221	0 g., 3021	2 g., 3509	0 g., 7242	0 g., 1066	0 g., 1155	0 g., 3733	0 g., 2248

Verbena officinalis L. — Essais biochimiques (L. BOURDIER).

Partie de la plante utilisée	graines sèches	graines sèches	racines	tiges	sommités fleuries	Observations
<i>Déviation</i> { initiales l = 2 { après invertine { après émulsionne <i>Matières réductrices</i> { initiale { après invertine { p. 100 cm ³ { après émulsionne <i>Par</i> { recul <i>invertine</i> { sucre formé { Indice <i>Par</i> { retour <i>émulsionne</i> { sucre formé { Indice <i>Verbénaloside</i> p. 100 g	— 30' — 4°32' — 17' 1 g., 078 1 g., 505 1 g., 526 1 g., 427 413 1 g., 15' 0 g., 021 46 0 g., 333	— 39' — 2 33' — 1° 6' 1 g., 100 2 g., 499 2 g., 527 1 g., 399 736 1 g., 027 0 g., 028 49 0 g., 386	+ 5°12' + 2°20' + 3°48' 1 g., 375 3 g., 480 3 g., 502 2°52' 2 g., 405 734 1°28' 0 g., 022 45 0 g., 390	— 1°32' — 3°18' + 33' 2 g., 546 3 g., 873 3 g., 873 1°46' 1 g., 327 751 3°51' 0 0 1 g., 027	— 4°15' — 5° 7' — 8' 3 g., 873 4 g., 435 4 g., 471 52' 0 g., 562 648 4°39' 0 g., 036 7 1 g., 248	1. — Les chiffres indiqués dans ce tableau sont différents de ceux donnés dans les expériences de L. BOURDIER car je les ai ramenés au liquide non défecté, afin qu'ils soient comparables à ceux donnés dans mes expériences. 2. — Verbénaloside calculé d'après le retour de la déviation.

Pour suivre l'évolution de ces différents glucides, j'exposerai d'abord et discuterai les résultats rapportés à 100 g. de tissu frais ou sec, puis dans une deuxième partie je les envisagerai rapportés à un certain nombre d'organes.

I. — Chiffres rapportés à 100 gr. de tissu frais ou sec.

Tous les résultats numériques sont rassemblés dans les tableaux et graphiques suivants, fig. : 7 et p. : 168.

J'ai réuni dans un tableau les essais effectués par L. BOURDIER. Dans l'ensemble, ils sont comparables à ceux de mes expériences. A signaler pourtant la teneur beaucoup plus élevée des tiges en verbénaloside ; il y a lieu de croire que L. BOURDIER a traité tige et hampe florale, tandis que je n'ai utilisé que la tige proprement dite. L'auteur précédent avait vu la grande richesse en verbénaloside des sommités fleuries, mais c'est là une dénomination plus pharmaceutique que botanique car elle comprend à la fois hampe florale, fruits mûrs, fruits verts, fleurs et bourgeons floraux.

Teneur en glucides des différents organes du *Verbena officinalis* L.

1. — En grammes p. 100 g. de substance fraîche

<i>Ose initial</i>	<i>Holoside</i>	<i>Verbénaloside</i>
1-fleurs..... 2,66	1-graines..... 1,35	1-bourgeon floral 2,55
2-bourgeon floral 0,51	2-racines..... 1,28	2-fleurs..... 0,73
3-racines..... 0,39	3-tiges..... 0,49	3-fruits..... 0,57
4-fruits..... 0,31	4-fruits..... 0,44	4-jeunes plantes. 0,42
5-tiges..... 0,26	5-fleurs..... 0,38	5-feuilles..... 0,30
6-feuilles..... 0,08	6-feuilles..... 0,29	6-graines..... 0,22
7-graines.. 0,05	7-bourgeon floral 0,27	7-racines..... 0,12
8-jeunes plantes. 0,03	8-jeunes plantes. 0,13	8-tiges.... 0,11

2. — En grammes p. 100 g. de substance sèche

<i>Ose initial</i>	<i>Holoside</i>	<i>Verbénaloside</i>
1-fleurs..... 13,28	1-racines..... 4,37	1-bourgeon floral 9,81
2-bourgeon floral 1,96	2-tiges..... 2,02	2-fleurs..... 3,62
3-racines..... 1,32	3-fleurs..... 1,91	3-jeunes plantes. 1,84
4-tiges..... 1,06	4-graines..... 1,35	4-feuilles..... 1,37
5-fruits..... 0,67	5-feuilles..... 1,32	5-fruits..... 1,23
6-feuilles..... 0,35	6-bourgeon floral 1,04	6-tiges..... 0,44
7-jeunes plantes. 0,13	7-fruits..... 0,95	7-racines..... 0,39
8-graines..... 0,05	8-jeunes plantes. 0,55	8-graines..... 0,23

1/ *Ose initial*. — En dehors de la fleur, très riche en sucre réducteur (13,28 p. 100 de la matière sèche), les organes de la Verveine en contiennent peu. La feuille, la graine et les jeunes plantes en sont particulièrement pauvres.

2/ *Holosides*. — Il est difficile de tirer des conclusions très nettes dans ce groupe, il comprend en effet : des holosides d'indice très élevé, jeunes plantes (2544), feuilles (8706), bourgeon floral (4062), fruits verts (6549), un d'indice très faible dans la fleur (193) et du saccharose, du stachyose ou leur mélange dans les tiges (874), dans les racines (706) et dans les graines (819). Or le tout est apprécié d'après la quantité de sucre réducteur apparu sous l'action de l'invertine ; dans le cas du saccharose entièrement transformé en sucre interverti le chiffre trouvé est complet, pour le stachyose il faudrait multiplier ce chiffre par 4,1 (*) pour avoir le chiffre exact.

Dans les racines et les tiges d'où j'ai pu l'extraire (**) la quantité véritable doit être aux environs de 16 p. 100 de la matière sèche pour la racine, de 8 p. 100 pour la tige.

A signaler la pauvreté relative en holosides du bourgeon floral, des fruits et de la jeune plante.

3/ *Verbénalosite*.

Cet hétéroside est contenu dans tous les organes de la plante dans des proportions allant de 1 à 24 pour la matière fraîche et de 1 à 45 pour la substance sèche.

Un organe est particulièrement riche, c'est le bourgeon terminal de la hampe florale, environ trois fois plus que la fleur, quatre fois plus que les fruits, six fois plus que les jeunes plantes, huit fois plus que les feuilles. Les or-

(*) L'invertine ne libère que le fructose à partir du stachyose et ne s'attaque pas au mannitriose (glucose *d* + galactose *d* + galactose *d*) v. p. : 165.

(**) V. p. : 164.

TENEUR EN OLUCIDES DES DIFFÉRENTES

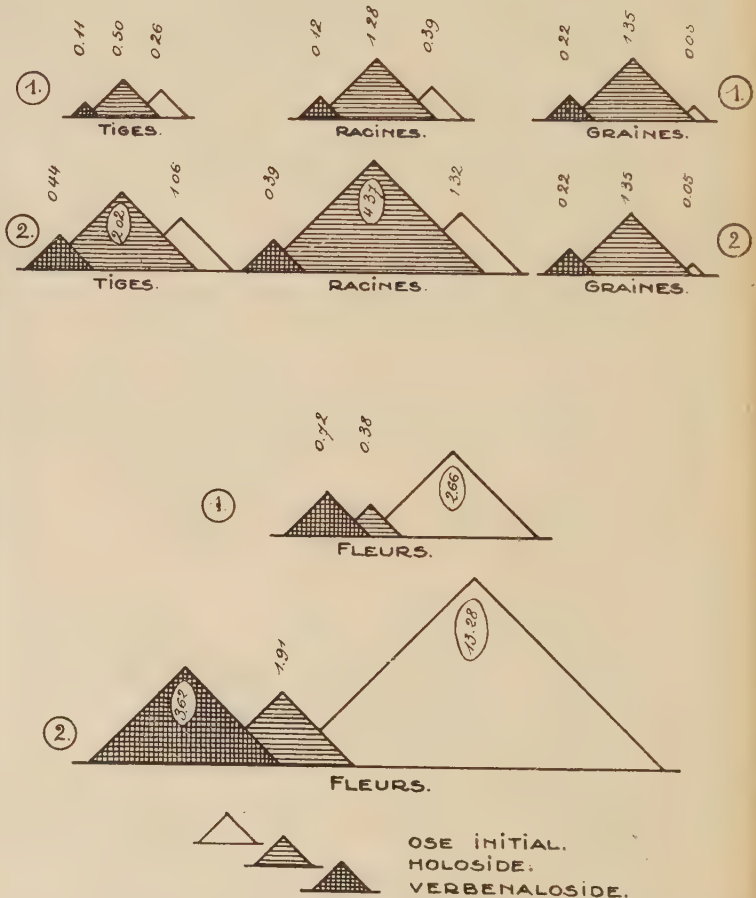
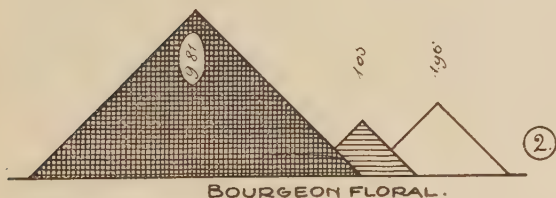
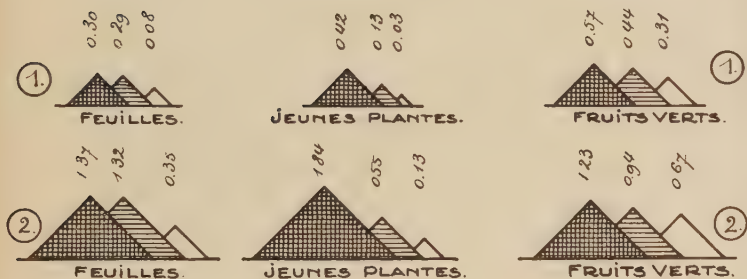


FIG. 7. — Teneur compa
de la Verveine offi

PARTIES DU

VERBENA OFFICINALIS L.



POIDS EN GR. RAPPORTÉS A 100. GR. DE

1. MATIÈRE FRAÎCHE.
2. MATIÈRE SÈCHE.

rée des différentes parties
cinale en glucides.

ganes de soutien ou de réserve en contiennent peu (racines, tiges, graines).

Au premier examen ces faits ne sont pas en faveur de son emploi par la plante comme substance de réserve. Mais l'on sait que le bourgeon floral est généralement riche en matières utilisables par les organes en voie de croissance rapide. Or nous y trouvons une quantité considérable de verbénalosite (9,81 p. 100 de la matière sèche) avec du sucre réducteur (1,96) et un peu d'holosite (1,04). De même dans la fleur nous trouvons beaucoup de sucre réducteur 13,28 p. 100 de la substance sèche à côté de 3,6 p. 100 de verbénalosite. Est-il employé pour la fleur ou rejeté ? La fécondation finie, dans le fruit vert le sucre réducteur et le verbénalosite diminuent de pair et cette diminution est encore bien plus grande dans la graine qui en est l'organe le plus pauvre. Si le sucre réducteur du bourgeon floral et de la fleur a servi de réserve locale, il est difficile de ne pas penser que le verbénalosite agit de même, d'autant plus que c'est avant la floraison, dans le bourgeon floral que la quantité est la plus élevée. S'il s'agissait d'un déchet il semble que la teneur devrait croître du bourgeon à la fleur, puis au fruit vert, puis à la graine, or c'est le contraire qui se produit.

On peut objecter sa moindre quantité dans les trois organes de réserve ou de soutien (graines, racines, tiges) (*) mais on ne peut juger avant d'examiner les variations mensuelles dans les parties aériennes et souterraines de la plante au cours de l'année.

(*) C'est la graine qui contient le moins de verbénalosite par rapport à la matière sèche. La jeune plante en contient quatre fois plus. Il aurait été intéressant de savoir si la graine germant, sans apport d'autres substances étrangères que l'eau et l'air, ce corps augmenterait. Malheureusement la germination des semences de Verveine est très délicate et les essais faits en atmosphère humide à l'étuve à 33° ont été trop irréguliers pour que je puisse utiliser les plantules apparues. D'ailleurs, au cours des cultures faites à Versailles les graines mises dans le sol ont mis plusieurs mois avant de germer.

II. — Chiffres rapportés à mille organes.

Pour suivre l'évolution des glucides au cours de la floraison et de la fructification, on présentera les résultats d'une façon différente.

Notons d'abord que le bourgeon terminal de la hampe florale dont la teneur p. 100 en verbénaloside est la plus considérable de tous les organes de la Verveine contient en moyenne, en septembre vers la fin de la floraison, dix boutons floraux et un fragment de hampe de poids négligeable.

Etant donnée la petitesse de ces parties végétales, j'indique dans le tableau et le graphique suivants les variations des glucides en milligrammes pour mille organes.

De plus le fruit contenant quatre graines, pour suivre l'évolution des glucides il faut rapporter les chiffres donnés pour mille fleurs et mille fruits à quatre milles graines, *v. fig. : 8.*

Organes	Poids frais	Ose initial	Holoside	Verbénaloside
	en mg.	en mg.	en mg.	en mg.
1000 boutons floraux	149	0,76	0,40	3,80
1000 fleurs	1330	35,38	5,05	9,70
1000 fruits verts	3280	10,17	14,43	18,70
4000 graines	1400	0,70	18,80	3,08

Ose initial. — L'augmentation est considérable du bouton à la fleur (46 fois plus) (*), puis la teneur décroît dans le fruit et encore plus dans la graine. C'est là un phénomène de physiologie végétale bien connu, formation des nectaires des fleurs, réserve locale dont les sucres sont utilisés pour la formation des organes reproducteurs après la féconda-

(*) Dans une note récente, R. COMBES [45] signale la très grande richesse de la fleur en glucides (ose, holoside, hétéroside) atteignant la moitié du poids de matière sèche des corolles étudiées.

Cette teneur en glucides se modifie brusquement, la migration des glucides changeant de sens dès l'épanouissement.

tion. D'autre part on sait que les graines sont pauvres en oses.

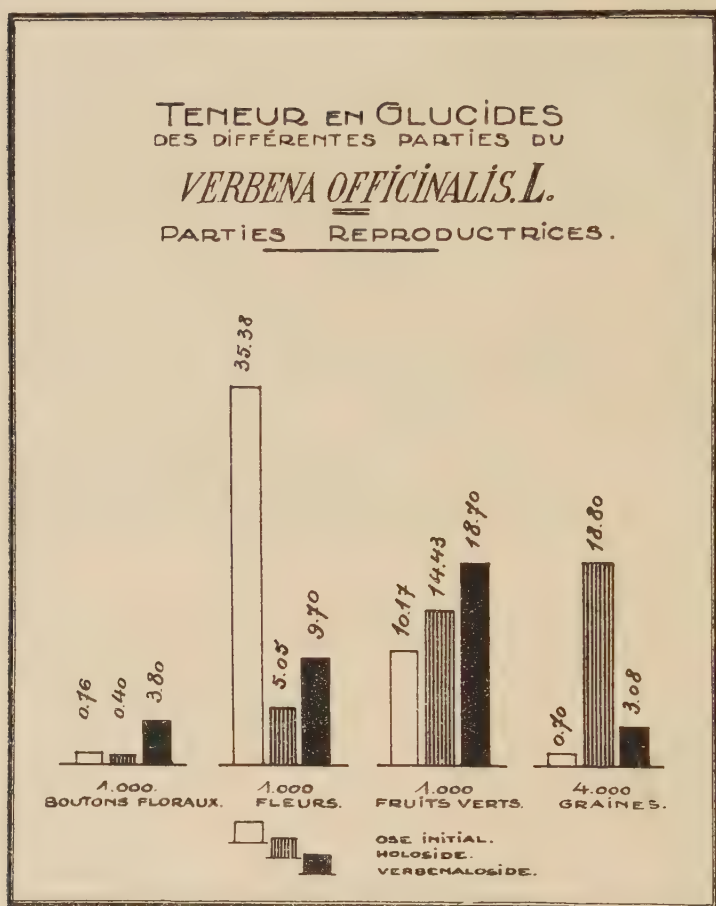


FIG. 8. — Teneur en glucides des parties reproductrices du *Verbena officinalis* L. en milligrammes pour 1000 boutons, 1000 fleurs, 1000 fruits et 4000 graines.

Holosides. — Sous ce même terme se trouvent confondus des sucres très différents (indices : **193** dans la fleur, **4062** dans le bouton floral, **6549** dans le fruit, **874** dans la graine). La quantité exprimée en glucose formé sous l'action de l'invertine croît régulièrement au cours de la floraison et de la fructification.

Verbénalosite. — La quantité de ce corps augmente du bouton à la fleur, de la fleur au fruit, puis décroît brusquement du fruit à la graine. Le fruit en contient deux fois plus que la fleur, cinq fois plus que le bouton floral, six fois plus que la graine.

Qu'est-il devenu au cours de la maturité du fruit ? A-t-il comme l'ose été utilisé pour l'édification des nouveaux tissus ou bien est-il resté dans l'enveloppe sèche du fruit ?

§ II

**Action de la Dessiccation sur la teneur en glucides
du *Verbena Officinalis* L**

§ II

ACTION DE LA DESSICCATION SUR LA TENEUR EN GLUCIDES DU VERBENA OFFICINALIS L.

EM. BOURQUELOT et ses élèves ont montré que dans les plantes desséchées sans précautions spéciales les hydrolases contenues dans les tissus font subir aux glucides des dédoublements plus ou moins accentués (*). C'est pour éviter ces transformations qu'EM. BOURQUELOT établi en 1896 [9] les règles de la stabilisation par l'alcool bouillant.

J'ai recherché sur la Verveine officinale l'importance des modifications des glucides dues à la dessiccation telle qu'on la pratique en droguerie.

Le 15 juin 1936, deux lots de quarante pieds, de même âge, aussi semblables que possible furent recueillis dans la station expérimentale de Versailles.

Le premier, à l'état frais, pèse 2744 g. donnant 2412 g. de parties aériennes et 332 g. de parties souterraines. Après stabilisation par l'alcool bouillant, on fait deux extraits l'un de parties aériennes, l'autre de parties souterraines, chacun à partir de 300 g. d'organes frais.

Le deuxième lot, de même poids, est mis à sécher à l'abri du soleil, les plantes *entières* suspendues sur des cordes dans un courant d'air (technique souvent utilisée en droguerie). Après quinze jours, il pèse 508 g. donnant 400 g. de parties aériennes et 108 g. de parties souterraines.

En calculant d'après ces chiffres les quantités de par-

(*) V. p. : 132, la caractérisation de l'invertine et de la glucosidase β dans la poudre fermentaire de Verveine.

ties aériennes et souterraines sèches correspondant à 300 g. d'organes frais j'ai fait deux extraits : le premier de 49 g. de parties aériennes sèches, le deuxième de 97 g. de parties souterraines sèches. Afin de compenser l'état de déshydratation de la plante, j'ai utilisé de l'alcool à 60°.

Sur chacun de ces quatre extraits on réalise un essai biochimique.

Voici les résultats rapportés à des solutions correspondant pour 100 cm³. à 100 g. d'organes frais :

PARTIES AERIENNES.

	Traitées fraîches		Traitées sèches	
	Déviatiou l = 2	Mat. réduetiées eu glucose p. 100 cm3.	Déviatiou l = 2	Mat. réduetiées eu glucose p. 100 cm3.
Au départ	— 24'	1g.,3292	— 1°12'	1g.,3472
Après invertine ..	— 28'	1g.,5028	— 1°14'	1g.,4928
Après émulsine ..				
0g.,25 p. 100 3° J.	+ 1°10'	1g.,5136	+ 10'	1g.,4928
t = labo. 5° J.	+ 1°30'	1g.,5240	+ 10'	1g.,4928
0g.,50 p. 100 45° J.	+ 1°30'	1g.,5240	+ 10'	1g.,4928
t = 33° 60° J.	+ 1°30'	1g.,5240	+ 10'	1g.,4928

Par invertine :

reoul	4'	2'
suee eonné	0g.,1796	0g.,1466
INDICE	2694	4368

Par émulsine :

retour	1°58'	1°24'
suee eonné	0g.,0212	0g.,00
INDICE	10	0

	Plantes traitées		Glueides disparus au cours de la dessieatiou
	fraiehes	séehes	
holoside : (*)	0g.,1796	0g.,1456	0g.,0340 soit 18,9 p. 100
verbénaloside : (**)	0g.,5242	0g.,3733	0g.,1509 soit 28,7 p. 100

(*) Holoside exprimé en mg. de glucose apparu sous l'influence de l'invertine.

(**) Verbénaloside calculé d'après la déviation.

PARTIES SOUTERRAINES

	Traitées fraîches		Traitées sèches	
	Déviati on 1 = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.	Déviati on 1 = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.
Au départ	+ 1°	0g.,3792	+ 57'	0g.,6400
Après invertine	+ 22'	0g.,8168	+ 12'	0g.,0628
Après émulsine				
0g.,25 p. 100 : t = labo				
5 ^e jour	+ 1° 14'	0g.,8280	+ 1° 4'	1g.,0800
10 ^e jour	+ 1° 26'	0g.,8988	+ 1° 10'	0g.,0832
0g.,50 p. 100 : t = 33°				
30 ^e jour	+ 1° 10'	0g.,9318	+ 1° 4'	1g.,3669
45 ^e »	+ 1° 2'	1g.,0220	+ 1° 4'	1g.,3669
60 ^e »	+ 1° 2'	1g.,0524	+ 1°	1g.,4068

Par invertine :

recul	38'	45'
sucré formé	0g.,4376	0g.,4228
INDICE	690	563

Par émulsine :

au 5^e jour :

retour	1° 4	58'
sucré formé	0g.,0112	0g.,0204
INDICE	10	21

au 60^e jour :

recul	24'	10'
sucré formé	0g.,2356	0g.,3268

	Plantes traitées fraîches	sèches	Glucides disparus au cours de la dessiccation
holoside : (*)	0g.,4376	0g.,4228	0g.,0148 soit 3,3 p. 100
verbénalosite : (**)	0g.,2840	0g.,2570	0g.,0270 soit 9,5 p. 100

(*) Holoside exprimé en mg. de glucose apparu sous l'influence de l'invertine.

(**) Verbénalosite calculé d'après la déviation.

Dessiccation à l'étuve à 32°-33°.

L. BOURDIER [8] a fait l'expérience suivante :

Un même lot de plantes entières cueillies en septembre est divisé en deux parts de 200 g. L'une est traitée immédiatement. L'autre, séchée pendant six jours à l'étuve à 32°-33°, est réduite à 72 g. soit 36 pour 100 du poids total, fournit un extrait qui est repris également par 200 cm³. d'eau.

L'examen polarimétrique des liquides montre que, sous l'influence de l'émulsine, la déviation subit un retour à droite.

1/ plante fraîche : 3° 9'

2/ plante sèche : 2° 38'

En calculant d'après les déviations polarimétriques la quantité de verbénalosite disparue, on trouve que la perte atteint environ 16 p. 100.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1/ Parties aériennes.

La quantité de sucres réducteurs primitifs est un peu plus grande dans la plante sèche que dans la Verveine fraîche. Cette faible augmentation doit provenir d'une hydrolyse de l'holoside.

Dans les deux cas l'holoside a l'indice élevé (2694 et 4368) déjà indiqué au cours des essais précédents (*). Sa teneur un peu plus faible dans la partie sèche (0 g.,0340) correspond à l'augmentation du sucre réducteur déjà signalée et à une utilisation des réserves par la plante avant l'arrêt de la vie cellulaire.

Holoside disparu au cours de la dessiccation : 18,9 p. 100.

Le verbénalosite a diminué de 28,7 p. 100.

(*) V. p. : 168 et p. : 171.

2/ Parties souterraines.

Les oses initiaux sont en quantité plus grande dans les racines sèches (0 g.,2608). Le surplus provient d'un dédoublement de l'holoside. Du stachyose ayant été extrait des parties souterraines de la Verveine (*) il s'agit donc de ce sucre, le stachyose pouvant être accompagné de saccharose (indice **690** et **563**). Au cours de la dessiccation l'holoside a diminué faiblement (3,3 p. 100).

Perte en verbénalosite : 9,5 p. 100.

Si nous comparons les essais dans les parties aériennes et souterraines, nous voyons que les diminutions sont beaucoup plus marquées dans les premières.

Perte pour 100 :		
parties aériennes,	→	parties souterraines
holoside	18,9	3,3
verbénalosite	28,7	9,5

Ceci tient-il à une moindre teneur des racines en hydrolases ou à une hydratation des tissus plus faibles ? (**).

Si nous reportons les chiffres obtenus à la plante entière, nous trouvons qu'il y a eu environ 27 p. 100 de verbénalosite disparu au cours de la dessiccation.

L. BOURDIER utilisant la dessiccation à l'étuve a constaté une perte d'environ 16 p. 100 d'hétéroside. Cette disparition atteint 27 p. 100 dans le cas de la dessiccation à l'ombre, par suspension de la plante dans un courant d'air sec, ce qui est le procédé employé habituellement par les ramasseurs. La perte doit augmenter considérablement si l'humidité de l'atmosphère retarde la déshydratation, permettant à la plante d'avoir une vie ralentie prolongée durant laquelle elle consomme ses réserves.

(*) V. p. : 164.

(**) — teneur en eau : parties aériennes 83, parties souterraines 68 p. 100.

Ainsi la plante sèche traitée selon la technique utilisée en droguerie contient presque les trois-quarts du verbénalosite existant dans la plante fraîche ; dans mon expérience cette teneur atteint 19 g.,6 par kg de tissu sec. La drogue commerciale, constituée uniquement par les parties aériennes sèches ,et renfermant 22 g., 8 d'hétéroside par kg. représente donc une matière première riche pour l'extraction de ce corps. C'est d'ailleurs la principale matière première que j'ai utilisée (*).

(*) V. p. : 13.

§ III

**Variations dans la composition glucidique
du VERBENA OFFICINALIS L.
au cours de la végétation d'une année**

§ - III

VARIATIONS DANS LA COMPOSITION GLUCIDIQUE DU VERBENA OFFICINALIS L. AU COURS DE LA VÉGÉTATION D'UNE ANNÉE

Août 1935 - Juillet 1936

Dates des prélèvements

PARTIES AÉRIENNES

—
16 Août 1935
15 Septembre 1935
15 Octobre 1935
12 Novembre 1935
—————
—————
—————
—————

16 Avril 1936
14 Mai 1936
15 Juin 1936
14 Juillet 1936

PARTIES SOUTERRAINES

—
16 Août 1935
15 Septembre 1935
15 Octobre 1935
12 Novembre 1935
16 Décembre 1935
15 Janvier 1936
15 Février 1936
14 Mars 1936
16 Avril 1936
14 Mai 1936
15 Juin 1936
14 Juillet 1936

**

Au cours des études comparatives des différentes parties du *Verbena officinalis* L. j'ai caractérisé et extrait du stachyose des tiges et des parties souterraines de cette plante. (*).

Il est admis que la présence de ce sucre dans une plante

(**) V. p. : 164.

rend inutilisable la méthode biochimique à l'émulsine pour l'identification d'un hétéroside contenu dans le même végétal.

En effet l'hydrolyse du glucoside tend à entraîner la déviation polarimétrique à droite, l'hydrolyse du manninotriose vers la gauche. Les deux phénomènes superposés s'annulent ou plutôt, le stachyose étant en quantité généralement plus importante que l'hétéroside, le premier passe inaperçu. Les deux dédoublements augmentent la quantité de sucre réducteur, mais cette détermination à elle seule est insuffisante et l'identification de l'hétéroside est impossible.

La présence de ce sucre semblait donc rendre vaine la recherche du verbénaloside dans les parties souterraines et dans les tiges du *Verbena officinalis* L. et l'étude des variations de ce corps au cours de la végétation d'une année par les essais mensuels impossible.

Deux sortes de faits m'ont permis de mettre au point une technique capable de tourner cette difficulté.

1/ L'indice enzymolytique très spécial du verbénaloside (*) : son hydrolyse donnant un retour vers la droite assez considérable pour une apparition nulle ou très faible de matières réductrices (**).

2/ L'étude des vitesses d'hydrolyse du verbénaloside et du stachyose par l'émulsine.

J. VINTILESCO [106] a montré que si le dédoublement du stachyose par l'invertine est très rapide (24 à 48 h.) la vitesse d'hydrolyse par l'émulsine du manninotriose formé est très lente. De plus cette vitesse dépend des quantités de ferment employées (0 g., 10 d'émulsine hydrolysant à peine le quart du manninotriose en 50 jours, tandis que 0 g., 50 dédoublent la totalité).

(*) V. p. : 148.

(**) Cet indice a été encore rapproché de 0 par l'emploi comme défécant du sous-acétate de plomb, qui rendant dextrogyre le pouvoir rotatoire gauche du verbénalol (v. p. : 72) augmente le retour vers la droite de la déviation.

L'hydrolyse du verbénaloside est infiniment plus rapide.

Connaissant ces faits je pouvais espérer dissocier l'action de ce ferment sur le verbénaloside et le stachyose en opérant en deux temps.

Dans un premier temps je n'emploierai que 0 g.,25 d'émulsine p. 100 cm³. dose moitié moindre que d'habitude. L'essai sera fait à la température du laboratoire (20° environ). Déviation et matières réductrices seront suivies chaque jour.

Au début, il y aura uniquement hydrolyse du verbénaloside, donc retour vers la droite sans augmentation sensible des matières réductrices. Puis l'hydrolyse du manninotriose commençant, la déviation va cesser d'augmenter, puis diminuer tandis que le sucre réducteur augmentera.

La quantité de verbénaloside sera calculée d'après le maximum de la déviation et l'indice vérifié sur ce chiffre et celui de la petite augmentation de sucre correspondante (souvent nulle).

Dans un deuxième temps, on doublera la dose d'émulsine et l'essai sera placé à l'étuve à 33° pour activer l'action fermentaire. Ce 2^e temps devra durer longtemps, dans mes essais, je l'ai arrêté arbitrairement après 2 mois (*).

J'ai vérifié la réalité de ces faits par l'essai effectué sur la solution suivante :

verbénaloside 5° cristallisation	1 g.
stachyose cristallisé	10 g.
eau distillée q. s. p.	200 cm ³ .

(*) L. BOURDIER dans ses expériences n'avait pu constater la présence du stachyose pour deux raisons.

a) il opérait seulement avec 0 g., 25 d'émulsine et ne faisait qu'une observation 3 jours après l'addition de ce ferment, l'hydrolyse du stachyose n'était pas encore commencée dans ces conditions,

b) ses essais ont été effectués en août et septembre, période où ce sucre commence seulement à s'accumuler dans les tiges et les racines.

Chiffres théoriques	Chiffres expérimentaux rapportés à 100 cm ³
<i>Au départ :</i> $\alpha \left\{ \begin{array}{l} \text{verbénalosite} : - 1^{\circ},8 = - 1^{\circ}48' \\ \text{stachyose} : \frac{133 \times 2 \times 10}{200} = + 13^{\circ},3 \\ = + 13^{\circ},3 + (- 1^{\circ},8) = + 11^{\circ},50 \\ = + 11^{\circ},30' \end{array} \right.$ <i>Matières réductrices</i> $\left\{ \begin{array}{l} \text{uniquement} \\ \text{verbénalosite} \\ \text{(en glucose)} : 0 \text{ g., } 4530 \end{array} \right.$ <i>Par invertine :</i> $\alpha \left\{ \begin{array}{l} \text{verbénalosite pas changé} : - 1^{\circ},8 \\ \text{stachyose} : + 13^{\circ},3 \times 0,689 : + 9^{\circ},16 \\ = + 9^{\circ},16 + (- 1^{\circ},8) \\ = + 7^{\circ},36 \\ = + 7^{\circ},20' \end{array} \right.$ <i>Matières verbénalosite pas changé :</i> 0 g., 4530 <i>réductrices stachyose</i> (indice 548) recul déviation : $13^{\circ},3 - 9^{\circ},16 = 4^{\circ},14$ $0,548 \times 4,14 = 2 \text{ g., } 2687$ $2 \text{ g., } 2687 + 0 \text{ g., } 4530 = 2 \text{ g., } 7217$ <i>Par émulsine :</i> 1. — D'abord uniquement verbénalosite dédoublé $\alpha : - 1^{\circ},48' + 15' + (- 10') = + 5'$ verbénalosite glucose + verbénalol retour déviation : $1^{\circ},48' + 5' = 1^{\circ},53'$ déviation totale $1^{\circ},53' + 7^{\circ},20' = + 9^{\circ},13'$ (mannitotriose) + lévulose) <i>Matières réductrices</i> $0 \text{ g., } 4530 + 0 \text{ g., } 2313 + 0 \text{ g., } 2^{\circ},69 = 0 \text{ g., } 5182$ verbénalosite glucose + verbénalol soit en plus 0 g., 5182 0 g., 4530 = 0 g., 0652 mat. réduct. totales : $0 \text{ g., } 0652 + 2 \text{ g., } 7287 = 2 \text{ g., } 7879$ (sucres hydrolyse (stachyose par invertine))	<i>Au départ :</i> + 11°30' 0 g., 4800 <i>Par invertine :</i> + 7°24' 2 g., 7580 <i>Par émulsine :</i> 1. — Emulsine 0 g., 25 p. 100 cm³. t = 20° (labo.) 3^e jour : + 8°58' 6^e jour : + 9°22' 3^e jour : 2 g., 7860 6^e jour : 2 g., 7810

2. — *Dédoublément du manninotriose*
 recul de la déviation, augmentation du
 sucre réducteur.

Par invertine :

Recul.....	4°10'
Sucre formé.....	2 g., 2687
Indice.....	544

Par émulsine :

Retour.....	1°53'
Sucre formé.....	0 g., 0652
Indice.....	34

2 — *Emulsine* 0 g., 50
 p. 100 cm³, t = 33°

8 ^e jour: + 9°6'	2 g., 9640
18 ^e jour: + 8°20'	3 g., 2280
28 ^e jour: + 7°32'	3 g., 3340
43 ^e jour: + 5°8'	3 g., 4920
60 ^e jour: + 4°52'	3 g., 4920

Par invertine :

Recul.....	4°6'
Sucre formé ..	2 g., 378
Indice.....	580

Par émulsine :

au 3 jour :	
Retour.....	1°34'
Sucre formé ..	0 g., 010
Indice.....	6
au 6 ^e jour :	
Retour.....	1°58'
Sucre formé ..	0 g., 023
Indice.....	11
au 60 ^e jour :	
Recul.....	4°30'
Sucre formé ..	0 g., 734

Dans cet essai, malgré la proportion de dix de stachyose pour un de verbénalosite, il est très facile de suivre l'hydrolyse de cet hétéroside.

Le retour prévu par l'émulsine est de 1°53', trouvé il est de 1°58' la différence est très faible et provient de l'emploi du sous-acétate de plomb qui, changeant le sens du pouvoir rotatoire du verbénalol, augmente la déviation terminale.

Une difficulté s'est produite au cours des derniers dosages, c'est l'oxydation du verbénalol par l'oxydase de l'émulsine qui a fortement coloré les solutions, rendant les lectures polarimétriques difficiles.

La technique étant au point je pouvais l'appliquer aux essais mensuels.

*
**

Utilisant la technique des essais mensuels, des biochimistes tels que J. VINTILESCO [106], M. BRIDEL [28-29], J. RA-

BATÉ [92-35], MILC M. BRAEKE [27], P. GILLOT [53], A. MEUNIER [80] et moi-même [39], avons suivi les variations saisonnières des holosides et des hétérosides dans les plantes.

Malgré tous les soins apportés par ces différents auteurs à leurs recherches, une critique peut souvent s'adresser à leurs travaux. Les prélèvements de plantes sont faits sur des pieds qui n'ont pas le même âge, la même grosseur, qui n'ont pas toujours poussé dans le même terrain, etc..., autant de variables additionnelles qui viennent fausser les expériences et gêner pour l'interprétation des résultats.

Sur les conseils de Monsieur le professeur R. COMBES et grâce à son intervention, j'ai pu établir un terrain d'expériences dans les jardins de l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles. Dans ce terrain, choisi sans engrais afin de se rapprocher des conditions de rusticité habituelle de cette plante, la Verveine officinale a été semée et cultivée.

Elle a été récoltée vers le quinze de chaque mois, le matin aux mêmes heures, portée et traitée au laboratoire dans les trois heures suivantes. Les graines ont été analysées avant d'être semées.

La plante ayant atteint une taille suffisante, j'ai prélevé chaque mois pendant un an les quantités nécessaires pour deux essais biochimiques l'un portant sur les parties aériennes, l'autre sur les parties souterraines. Durant l'hiver (décembre à mars), les parties aériennes fanées n'ont pas été analysées, elles ont seulement servi à repérer l'emplacement des racines.

Les graines ont été semées en pleine terre le 15 avril 1935, les premières plantes ne commencent à paraître que vers le 15 juin (soit deux mois plus tard). En juillet il y a de nombreuses petites rosettes de feuilles sur le sol, puis les Verveines grandissent rapidement. Au début d'août, elles atteignent vingt à trente centimètres et commencent à fleurir. Au 15 août on opère un premier prélèvement.

On trouvera au début de chaque essai, l'histoire de la

température et de la végétation pendant la période précédant l'analyse.

*
**

Voici des renseignements climatiques fournis par l'Office national météorologique sur la période août 1935-juillet 1936 dans la région parisienne.

V. tableau p. : 198.

Cette période a été peu ensoleillée et très pluvieuse.

Elle se caractérise par :

200 jours de pluie au lieu de 164 en moyenne,

1540 heures de soleil au lieu de 1745,

852 mm. d'eau recueillie au lieu de 592.

Durant l'hiver et au printemps il y a eu de faux départs de la végétation dus à une température pluvieuse et douce coupée parfois par de rares gelées.

Le mois de juillet 1936 fait date dans les annales de la météorologie comme faible insolation (130 heures, 5, chiffre habituel pour mars), le nombre de jours de pluie (24) et la hauteur d'eau recueillie (160 mm, 4 au lieu de 58 mm, 9, chiffre habituel).

Les travaux de ce genre sont facilités par une opposition accentuée des saisons, du froid et de la chaleur, de la sécheresse et de l'humidité, tous ces facteurs augmentant les variations des glucides dans la même plante.

Renseignements climatiques sur la période Août 1935 - Juillet 1936 dans la région parisienne. (chiffres fournis par l'Office National Météorologique)

Mois	Température moyenne		Durée d'insolation heures		Jours de pluie		Eau tombée mm	
	du mois	Calculée sur 60 ans (*)	du mois	Calculée sur 52 ans (**)	dans le mois	Calculé sur 60 ans (*)	du mois	Calculée sur 60 ans (*)
Août 1935.....	18,61	17,78	218,7	223,7	12	12	76,3	54,9
Septembre.....	15,86	14,84	169,5	164,4	17	12	40,7	47,8
Octobre.....	10,32	10,19	115,9	115,9	14	15	26	60,9
Novembre.....	7,27	6,01	51,1	64,2	18	15	53,8	50,3
Décembre.....	3,85	3,36	34,8	50,0	22	16	102,5	50,6
Janvier 1936.....	6,48	2,87	33,9	59,8	24	15	115,2	39,2
Février.....	3,91	3,82	93,4	88,5	18	13	54,3	36,1
Mars.....	8,42	6,36	127,2	130	16	14	32	41,2
Avril.....	8,31	9,61	140,2	164	15	14	69,6	43,9
Mai.....	14,88	13,48	217,5	221	3	13	17,9	52,9
Juin.....	17,47	16,48	207,4	225	17	12	103,7	55,3
Juillet.....	17,20	18,24	130,5	236,6	24	13	160,4	58,9

*) — Moyenne calculée sur la période 1874-1933

(**) — Moyenne calculée sur la période 1881-1933.

Verbena officinalis L., 16 août 1935

— La plante est fleurie, les fruits déjà formés à la partie inférieure de la hampe florale mais les graines ne sont pas mûres.

— 15 juillet-15 août : temps chaud et sec.

— 10 pieds pèsent 235 g. $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 212 g.} \\ \text{parties souterraines : 23 g.} \end{array} \right.$

— Matière sèche p. 100 : $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 26.} \\ \text{parties souterraines : 31.} \end{array} \right.$

	Parties aériennes			Parties souterraines	
	Déviation l = 2	Mat. réduites en glucose p. 100 cm3		Déviation l = 2	Mat. réduites en glucose p. 100 cm3.
Après invertine	— 51'	0g.,7966	+	4°9'	0g.,7797
Au départ	— 1°4'	1g.,2478	+	2°34'	1g.,9588
Après émulsine					
5 ^e jour	+ 21'	1g.,2478	+	3°	1g.,9588
11 ^e »	+ 21'	1g.,2478	+	2°51'	2g.,1119
23 ^e »	+ 21'	1g.,2478	+	2°11'	2g.,2980

Par invertine :

recul	13'	1°35'
sucres formés	0g.,4512	1g.,1791
INDICE	2082	744

Par émulsine :

au 5^e jour :

retour	1°25'	26'
sucres formés	0	0
INDICE	0	0

au 23^e jour :

recul	0	49'
sucres formés	0	0g.,3392

Après l'action de l'invertine et de l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena officinalis* L. et la géosidase n'ont pas d'action.

Verbena officinalis L., 15 septembre 1935

— La plante est presque entièrement grainée, encore quelques fleurs à l'extrémité supérieure de la hampe florale. Les graines commencent à être mûres.

— 15 août-15 septembre : temps frais, orageux, fortes pluies.

— 10 pieds pèsent 252 g. $\left\{ \begin{array}{l} 227 \text{ g. parties aériennes.} \\ 25 \text{ g. parties souterraines.} \end{array} \right.$

— Matière sèche p. 100 : $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 20.} \\ \text{parties souterraines : 29,4.} \end{array} \right.$

	Parties aériennes		Parties souterraines	
	Déviati on 1 = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.	Déviati on 1 = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.
Au départ	— 9'	0g.,5313	+	5°13' 0g.,4917
Après invertine	— 18'	0g.,9044	+	3°24' 1g.,7760
Après émulsine :				
3 ^e jour	+ 33'	0g.,9072	+	3°51' 1g.,8060
33 ^e jour	+ 33'	1g.,0951	+	2°25' 2g.,5024
48 ^e jour	+ 26'		+	2°12' 2g.,5845
75 ^e jour	+ 25'	1g.,1123	+	1°59' 2g.,8149
Par invertine :				
recul		9'		1°49'
sucre formé		0g.,3731		1g.,2843
INDICE		2487		706
Par émulsine :				
au 3 ^e jour :				
retour		51'		27'
sucre formé		0g.,0028		0g.,030
INDICE		3		66
au 73 ^e jour :				
recul		8'		1°52'
sucre formé		0g.,2079		1g.,0089

Verbena officinalis L., 15 octobre 1935

— La plante commence à se faner, mais au collet ont poussé des rejets très verts de 5 à 6 cm. de haut, graines en grande partie tombées.

— 15 septembre-15 octobre : temps doux et pluvieux, assez chaud.

— 10 pieds pèsent 330 g. $\left\{ \begin{array}{l} 284 \text{ g. parties aériennes.} \\ 46 \text{ g. parties souterraines.} \end{array} \right.$

— Matière sèche p. 100 : $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 28.} \\ \text{parties souterraines : 26.} \end{array} \right.$

	Parties aériennes		Parties souterraines	
	Déviation 1 = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.	Déviation 1 = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.
Au départ	+ 9°3'	0g.,7923	+ 18°11'	0g.,8118
Après invertine	+ 5°45'	2g.,8520	+ 11°39'	4g.,6134
Après émulsine :				
1 ^{er} jour	+ 6°25'	2g.,8648	+ 12°28'	4g.,6134
2 ^e »	+ 6°47'	2g.,8908	+ 12°43'	4g.,6134
3 ^e »	+ 6°49'	2g.,8908	+ 12°43'	4g.,6134
4 ^e »	+ 6°47'	2g.,9040	+ 12°39'	4g.,6134
6 ^e »	+ 6°29'	2g.,9554	+ 12°39'	4g.,6134
nouvelle addition d'émulsine				
20 ^e »	+ 5°36'	3g.,5327	+ 11°20'	5g.,2635
34 ^e »	+ 5° 1'	3g.,9600	+ 9°56'	5g.,8080

Par invertine :

recul	3°18'	6°32'
sucres formés	2g.,0597	3g.,8016
INDICE	624	581

Par émulsine :

au 3^e jour, t : 20°

retour	1°4'	1°4'
sucres formés	0g.,0388	0
INDICE	36	0

au 34^e jour, t 33°

recul	1°48'	2°47'
sucres formés	1g.,1080	1g.,1946

Verbena officinalis L., 12 novembre 1935

— Les graines sont tombées, les hautes tiges en partie fanées, mais les rejets au collet ont poussé et sont très verts. Après 2 gelées (—5°) vers le 24 octobre, le temps est redevenu doux et pluvieux.

— 10 pieds pèsent : 325 g. $\left\{ \begin{array}{l} 268 \text{ g. parties aériennes.} \\ 57 \text{ g. parties souterraines.} \end{array} \right.$

— Matière sèche p. 100 : $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 25.} \\ \text{parties souterraines : 29.} \end{array} \right.$

	Parties aériennes		Parties souterraines	
	Déviation 1 = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.	Déviation 1 = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.
Au départ	+ 17°51'	0g.,9702	+ 19° 8'	0g.,7216
Après invertine	+ 11°59'	4g.,8719	+ 13°12'	4g.,7971
Après émulsine :				
émulsine 0g.,25 p. 100, t : 20°				
au 1 ^{er} jour			+ 13°33'	4g.,8000
au 2 ^e »			+ 13°48'	4g.,8090
au 3 ^e »	+ 12°42'		+ 13°50'	
au 4 ^e »	+ 12°51'	4g.,8720	+ 14° 6'	4g.,8090
au 7 ^e »	+ 12°51'		+ 13°54'	5g.,0853
émulsine 0gr.50 p. 100, t. : 33°				
au 17 ^e »	+ 11°53'	5g.,0842	+ 12°57'	5g.,5000
au 41 ^e »	+ 10°58'	5g.,7475	+ 11°20'	5g.,8421
au 51 ^e »	+ 9°30'	5g.,8729	+ 10°55'	5g.,9950

Par invertine :

recul	5°52'	5°56'
sucré formé	3g.,9017	4g.,0755
INDICE	665	686

Par émulsine au 4^e jour.

0g.,25 pour 100, t : 20°

retour	52'	54'
sucré formé	0g.,0001	0g.,0119
INDICE	0	13

Par émulsine au 51^e jour.

0g.,50 pour 100, t. : 33°

recul	3°21'	3°11'
sucré formé	1g.,0010	1g.,1979

Verbena officinalis L., 16 décembre 1935

— A l'exception de quelques rejets, la plante est complètement fanée. A part quelques gelées (-2°) vers le 20 novembre, le temps a été plutôt doux et pluvieux.

L'essai a porté uniquement sur les parties souterraines.

— Matière sèche p. 100 : 27, g.,5.

— P. souter. de 10 pieds : 49 gr.

	Déviati 1 = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm3.
Au départ	+ 18°29'	0g.,7554
Après invertine	+ 11°44'	5g.,1865
Après émulsine		
émulsine 0 g., 25 p. 100, t. : labo		
3 ^e jour	+ 11°54'	5g.,1865
5 ^e »	+ 12°56'	5g.,2041
8 ^e »	+ 12°56'	5g.,3823
émulsine 0 g., 25 p. 100, t. : labo		
25 ^e jour	+ 11°22'	5g.,7475
41 ^e »	+ 10°49'	6g.,1077
51 ^e »	+ 9°52'	6g.,2414

Par invertine :

recul	6°45'
sucré formé	4g.,4311
INDICE	656

Par émulsine :

au 5^e jour :

retour	1°12'
sucré formé	0g.,0176
INDICE	14

au 51^e jour :

recul	3°4'
sucré formé	1g.,0549

Verbena officinalis L., 15 janvier 1936

— La plante a ses hautes tiges fanées, mais les rosettes de feuilles placées au collet sont vertes. Fin décembre et première quinzaine de janvier ayant été exceptionnellement doux.

L'essai a porté uniquement sur les parties souterraines de la plante.

— Matière sèche p. 100 : 29.

— Parties souterraines de 10 pieds : 51 g.

	Déviati 1 = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm ³ .
Au départ	+ 18°11'	0g.,7492
Après invertine	+ 11°17'	5g.,3264
Après émulsine ;		
0g.,25 pour 100, t = 20°		
6 ^e jour	+ 12°28'	5g.,3264
12 ^e »	+ 12°28'	5g.,3266
0g.,50 pour 100, t = 33°		
22 ^e jour	+ 11°50'	5g.,7898
35 ^e »	+ 10°27'	6g.,0875
51 ^e »	+ 9°53'	6g.,2392

Par invertine :

recul	6°54'
sucres formés	4g.,5772
INDICE	663

Par émulsine :

au 6^e jour :

retour	1°11'
sucres formés	0
INDICE	0

au 51^e jour :

recul	2°35'
sucres formés	0g.,9128

Verbena officinalis L., 15 février 1936

— La plante a le même aspect qu'en janvier, malgré un temps plus froid (quelques gelées du 1^{er} au 15 février, —2 à —3°) les rosettes de feuilles entourant le collet sont restées très vertes.

L'essai a porté uniquement sur les parties souterraines de la plante.

— Matière sèche p. 100 : 27.

— Les parties souterraines correspondant à 10 pieds pèsent : 47 g.

	Déviatiôn 1 = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm ³ .
Au départ	+ 13°	0g.,6261
Après invertine	+ 7°37'	4g.,0744
Après émulsine :		
0g.,25 pour 100, t. = 20°		
2 ^e jour	+ 8°5'	4g.,0744
5 ^e »	+ 8°49'	4g.,0744
0g.,50 pour 100, t = 33°		
16 ^e jour	+ 8°8'	4g.,2210
23 ^e «	+ 7°48'	4g.,3470
54 ^e »	+ 6°46'	4g.,5690

Par invertine :

recul	5°23'
sucré formé	3g.,4483
INDICE	640

Par émulsine :

au 5^e jour :

retour	1°12'
sucré formé	0
INDICE	0

au 34^e jour :

recul	2°3'
sucré formé	0g.,4946

Verbena officinalis L., 14 mars 1936

La plante a le même aspect qu'en janvier et février.

Du 15 février au 14 mars : temps frais, quelques gelées blanches.

Les rosettes de feuilles commencent à repousser.

L'essai a porté uniquement sur les parties souterraines.

— Matière sèche p. 100 : 28.

— Les parties souterraines correspondant à 10 pieds pèsent : 53 g.

	Déviation l = 2	Matières réductrices en glucose p. 100 cm ³ .
Au départ	+ 12°36'	0g.,6012
Après invertine	+ 7°10'	4g.,0821
Après émulsine :		
0g.,25 pour 100, t = 20°		
3 ^e jour	+ 7°51'	4g.,0131
6 ^e »	+ 8°15'	4g.,0626
8 ^e »	+ 8°27'	4g.,0626
0g.,50, pour 100, t. = 33°		
18 ^e jour	+ 8°27'	4g.,2102
28 ^e »	+ 7°59'	4g.,5018
43 ^e »	+ 6°54'	4g.,6530
60 ^e »	+ 6°6'	4g.,8573
Par invertine :		
recul		5°26'
sucré formé		3g.,4809
INDICE		640
Par émulsine :		
au 6 ^e jour :		
retour		1°17'
sucré formé		0
INDICE		0
au 60 ^e jour :		
recul		2°21'
sucré formé		0g.,7752

Verbena officinalis L, 16 avril 1936

Les rosettes de feuilles des pieds repoussent, mais à côté des jeunes feuilles il y a des feuilles vertes qui ont résisté aux gelées de l'hiver.

Du 15 au 31 mars : temps chaud, du 1^{er} au 15 avril temps pluvieux et froid.

- Matière sèche p. 100 : $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 27.} \\ \text{parties souterraines : 30.} \end{array} \right.$
- 10 pieds pèsent : 200 g. $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 49 g.} \\ \text{parties souterraines : 51 g.} \end{array} \right.$

	Parties aériennes		Parties souterraines	
	Déviation l = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.	Déviation l = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.
Au départ	+ 4°28'	1g.,0320	+ 5°44'	0g.,3564
Après invertine ..	+ 2°16'	2g.,2820	+ 2°34'	1g.,9920
Après émulsine :				
0g.,25 pour 100, t=labo.				
4 ^e jour	+ 3°30'	2g.,3240	+ 3°44'	2g.,0260
6 ^e »	+ 3°34'	2g.,3240	+ 3°38'	2g.,0260
0g.,50 pour 100, t=33°				
27 ^e jour	+ 3° 8'	2g.,6050	+ 2°46'	2g.,4520
45 ^e »	+ 2°52'	2g.,7080	+ 2°20'	2g.,5550
60 ^e »	+ 2°44'	2g.,7850	+ 2°14'	2g.,7600

Par invertine :

recul	2°12'	2°10'
sucré formé	1g.,250	1g.,6356
INDICE	568	754

Par émulsine :

au 6^e jour :

retour	1°18'	1°10'
sucré formé	0g.,0420	0g.,0340
INDICE	32	28

au 60^e jour :

recul	50'	1°30'
sucré formé	0g.,503	0g.,768

Verbena officinalis L., 14 mai 1936

La plante pousse, les tiges nouvelles commencent à monter.
Du 15 avril au 15 mai : temps frais mais assez beau.

— Matière sèche p. 100 : $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 20.} \\ \text{parties souterraines : 28.} \end{array} \right.$
— 10 pieds pèsent : 234 g. $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 170 g.} \\ \text{parties souterraines : 64 g.} \end{array} \right.$

	Parties aériennes		Parties souterraines	
	Déviati 1 = 2	Mat. réduci en glucos p. 100 cm3.	Déviati 1 = 2	Mat. réduci en glucos p. 100 cm3.
Au départ	$\pm$ 0	0g.,6972	+ 2°16'	0g.,4244
Après invertine ..	— 30'	1g.,1444	+ 54'	1g.,2496
Après émulsine :				
0g.,25 pour 100, t=labo.				
4° jour	+ 46'	1g.,1444	+ 1°54'	1g.,2496
6° »	+ 1°20'	1g.,1444	+ 2°	1g.,2496
0g.,50 pour 100, t=33°				
15° jour	+ 1°20'	1g.,2910	+ 1°56'	1g.,4812
30° »	+ 1°20'	1g.,2910	+ 1°48'	1g.,5240
45° »	+ 1°18'	1g.,3030	+ 1°42'	1g.,5860
60° »	+ 1°14'	1g.,3124	+ 1°30'	1g.,6736

Par invertine :

recul	30'	1°22'
sucré formé	0g.,4472	0g.,8252
INDICE	894	603

Par émulsine :

au 6° jour :

retour	1°50'	1° 6'
sucré formé	0	0
INDICE	0	0

au 60° jour :

recul	6'	12'
sucré formé	0g.,1680	0g.,4240

Verbena officinalis L , 15 juin 1936.

La plante a de hautes tiges, mais pas encore de hampes florales.

15 mai-15 juin temps assez frais mais beau.

10 pieds pèsent : 686 g. / parties aériennes : 603 g.
parties souterraines : 83 g.

Matière sèche p. 100. < parties aériennes : 15.
parties souterraines : 23

	Parties aériennes		Parties souterraines	
	Déviati 1 = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.	Déviati 1 = 2	Mat. réductrices en glucose p. 100 cm3.
Au départ	— 24'	1g.,3232	+ 1°	0g.,3792
Après invertine	— 28'	1g.,5028	+ 22'	0g.,8168
Après émulsine				
0g.,25 p. 100, t = labo.				
3 ^e jour	+ 1°10'	1g.,5136	+ 1°14'	0g.,8280
5 ^e »	+ 1°30'	1g.,5240	+ 1°26'	0g.,8988
0g.,50 pour 100, t = 33°				
15 ^e »	+ 1°28'	1g.,5240	+ 1°2'	1g.,0220
60 ^e »	+ 1°30'	1g.,5240	+ 1°2'	1g.,0524

Par invertine :

recul	4'	38'
sucré formé	0g.,1796	0g.,4376
INDICE	2694	690

Par émulsine :

au 5^e jour :

retour	1°58'	1°4'
sucré formé	0g.,0212	0g.,0112
INDICE	10	10

au 60^e jour :

recul	0	24'
sucré formé	0	0g.,2356

Verbena officinalis L., 14 juillet 1936.

Les pieds sont hauts de 80 à 90 cm., les tiges commencent à fleurir.

15 juin-juillet : temps orageux, humide.

10 pieds pèsent 854 g. $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 717 g.} \\ \text{parties souterraines : 137 g.} \end{array} \right.$

Matière sèche p. 100. $\left\{ \begin{array}{l} \text{parties aériennes : 21.} \\ \text{parties souterraines : 24.} \end{array} \right.$

	Parties aériennes		Parties souterraines		
	Déviati = 2	Mat. réduc en glucos p. 100 cm3	Déviati 1 = 2	Mat. réduc en glucos p. 100 cm3.	
Au départ	— 46'	0g.,5892	+	59'	0g.,3576
Après invertine	— 50'	0g.,8268	+	24'	0g.,7720
Après émulsine					
0g.,25 pour 100, t. = labo					
3 ^e jour	+ 56'	0g.,8268	+	1° 18'	0g.,7720
5 ^e »	+ 1°	0g.,8370	+	1° 20'	0g.,7800
0g.,50 p. 100, t = 33°					
15 ^e »	+ 1°	0g.,8370	+	1° 12'	0g.,7800
30 ^e »	+ 1°	0g.,8370	+	1° 10'	0g.,8810
60 ^e »	+ 1°	0g.,8370	+	1° 2'	0g.,9472

Par invertine :

recul	4'	35'
sucré formé	0g.,2376	0g.,4144
INDICE	3564	710

Par émulsine :

au 5° jour :

retour	1°50'	56'
sucré formé	0g.,0102	0g.,0080
INDICE	5	8

au 60° jour :

recul	0	18'
sucré formé	0	0g.,1752

	16 août	15 sept.	15 octob.	12 nov.	16 déc.	15 janv.	15 février	14 mars	16 avril	14 mai	15 juin	14 juillet
Déviations I = 2	+ 4° 9'	+ 5° 13'	+ 18° 11'	+ 19° 8'	+ 18° 29'	+ 18° 11'	+ 13°	+ 12° 36'	+ 5° 44'	+ 2° 16'	+ 1°	+ 59'
initiale.....	+ 2° 34'	+ 3° 24'	+ 11° 09'	+ 13° 12'	+ 11° 44'	+ 11° 17'	+ 7° 37'	+ 7° 10'	+ 2° 34'	+ 54'	+ 22'	+ 24'
après invertine	+ 3°	+ 3° 51'	+ 12° 43'	+ 14° 6'	+ 12° 56'	+ 12° 28'	+ 8° 49'	+ 8° 27'	+ 3° 38'	+ 2°	+ 1° 26'	+ 1° 20'
après émulsion 5 ^e jour	+ 2° 51'	+ 2° 12'	+ 11° 20'	+ 11° 20'	+ 10° 49'	+ 10° 27'	+ 7° 48'	+ 7° 59'	+ 2° 46'	+ 1° 48'	+ 1° 2'	+ 1° 10'
» » 30 ^e jour	+ 2° 11'	+ 1° 59'	+ 9° 56'	+ 10° 55'	+ 9° 52'	+ 9° 53'	+ 6° 46'	+ 6° 6'	+ 2° 14'	+ 1° 30'	+ 1° 2'	+ 1° 2'
» » 60 ^e jour												
Matières réductrices	0 g. 7797	0 g. 4917	0 g. 8118	0 g. 7216	0 g. 7554	0 g. 7492	0 g. 6261	0 g. 6012	0 g. 3564	0 g. 4244	0 g. 3792	0 g. 3576
initiales	1 g. 9588	1 g. 7760	4 g. 6134	4 g. 7371	5 g. 1865	5 g. 3264	4 g. 0744	4 g. 0821	1 g. 9920	1 g. 2496	0 g. 8168	0 g. 7720
après invertine	1 g. 9588	1 g. 8060	4 g. 6134	4 g. 8090	5 g. 2041	5 g. 3264	4 g. 0744	4 g. 0626	2 g. 0260	1 g. 2496	0 g. 8280	0 g. 7720
après émulsion 5 ^e jour	2 g. 1119	2 g. 5845	5 g. 2635	5 g. 8421	6 g. 1077	6 g. 0875	4 g. 3470	4 g. 5018	2 g. 4520	1 g. 5240	1 g. 0220	0 g. 8810
» » 30 ^e jour	2 g. 2980	2 g. 8149	5 g. 8080	5 g. 9950	6 g. 2414	6 g. 2392	4 g. 5690	4 g. 8573	2 g. 7600	1 g. 6736	1 g. 0524	0 g. 9472
» » 60 ^e jour												
Par Invertine	recul sucres formés	1° 35' 1 g. 1791	6° 32' 4 g. 8016	5° 56' 4 g. 0755	6° 45' 4 g. 4311	6° 54' 4 g. 5772	5° 23' 3 g. 4483	5° 26' 3 g. 4809	2° 10' 1 g. 6356	1° 22' 0 g. 8252	38' 0 g. 4376	35' 0 g. 4144
	Indice	745	581	686	656	663	640	640	754	603	690	710
Par émulsion	retour	26'	1° 4'	54'	1° 12'	1° 11'	1° 12'	1° 17'	1° 10'	1° 6'	1° 4'	56'
	sucres formés	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	indice	0	0	13	14	0	0	0	28	0	10	8
	recul	49'	1° 52'	2° 47'	3° 4'	2° 35'	2° 3'	2° 21'	1° 30'	12'	24'	48'
	sucres formés	0 g. 3920	1 g. 0089	1 g. 1946	1 g. 1979	1 g. 0569	0 g. 9128	0 g. 7752	0 g. 768	0 g. 4240	0 g. 2356	0 g. 1752
Matière sèche p. 100	31	29,4	26	29	27,5	29	27	28	30	28	23	24

	16 août	15 Sept.	15 octob.	12 nov.	16 déc.	15 janv.	15 février	14 mars	16 avril	14 mai	15 juin	14 juillet
Parties aériennes.												
Déviation I = 2	initiale.....	— 51'	— 9'	+ 9° 3'	+ 17° 51'	—	—	—	+ 4° 28'	— 0°	— 24'	— 46'
	après invertine	— 1° 4'	— 18'	+ 5° 45'	+ 14° 59'	—	—	—	+ 2° 16'	— 30'	— 28'	— 50'
	après émulsine 5 ^e jour	+ 21'	+ 33'	+ 6° 49'	+ 12° 51'	—	—	—	+ 3° 34'	+ 1° 20'	+ 1° 30'	+ 1°
	» » 30 ^e jour	+ 21'	+ 26'	+ 5° 36'	+ 10° 58'	—	—	—	+ 3° 8'	+ 1° 20'	+ 1° 28'	+ 1°
Matières Réductrices	» » 60 ^e jour	+ 21'	+ 25'	+ 5° 1'	+ 9° 30'	—	—	—	+ 2° 44'	+ 1° 14'	+ 1° 30'	+ 1°
	initiales	0 g. 7966	0 g. 5313	0 g. 7923	0 g. 9702	—	—	—	1 g. 0320	0 g. 6972	1 g. 3232	0 g. 5892
	après invertine	1 g. 2478	0 g. 9044	2 g. 8520	4 g. 8719	—	—	—	2 g. 2820	1 g. 1444	1 g. 5028	0 g. 8268
	après émulsine 5 ^e jour	1 g. 2478	0 g. 9072	2 g. 8908	4 g. 8720	—	—	—	2 g. 3240	1 g. 1444	1 g. 5136	0 g. 8268
Par invertine	» » 30 ^e jour	1 g. 2478	1 g. 0951	3 g. 5327	5 g. 7475	—	—	—	2 g. 6050	1 g. 3039	1 g. 5240	0 g. 8370
	» » 60 ^e jour	1 g. 2478	1 g. 1123	3 g. 9600	5 g. 8729	—	—	—	2 g. 7850	1 g. 3124	1 g. 5240	0 g. 8370
	recul	13'	9'	3° 18'	5° 52'	—	—	—	2° 12'	30'	4'	4'
	sucre formé	0 g. 4512	0 g. 3731	2 g. 0597	3 g. 9017	—	—	—	1 g. 2500	0 g. 4472	0 g. 1796	0 g. 2376
Par émulsine	indice	2082	2487	624	665	—	—	—	568	894	2694	3504
	retour	1° 25'	51'	1° 4'	52'	—	—	—	1° 18'	1° 50'	1° 58'	1° 50'
	sucre formé	0	0 g. 0028	0 g. 0388	0 g. 0001	—	—	—	0 g. 0420	0	0 g. 0212	0 g. 0102
	indice	0	3	36	0	—	—	—	32	0	10	5
Matière sèche p. 100	recul	0	8'	1° 48'	3° 21'	—	—	—	50'	6'	0	0
	sucre formé	0	0 g. 2079	1 g. 1080	1 g. 0010	—	—	—	0 g. 5030	0 g. 1680	0	0
		26	20	28	25	—	—	—	27	20	15	21
						—	—	—				

**Variation dans la composition glucidique
du *Verbena officinalis* L.
au cours de la végétation d'une année**

(août 1935-juillet 1936)

— en grammes p. 100 de substance fraîche.

1. — PARTIES AERIENNES

	Ose initial	Holoside	Verbénaloside
Août	0,456	0,451	0,377
Septembre	0,324	0,373	0,228
Octobre	0,535	2,060	0,284
Novembre	0,764	3,901	0,228
Avril	0,719	1,250	0,346
Mai	0,255	0,447	0,488
Juin	0,849	0,180	0,524
Juillet	0,146	0,238	0,489

2. — PARTIES SOUTERRAINES.

Août	0,676	1,179	0,115
Septembre	0,383	1,284	0,120
Octobre	0,554	3,801	0,284
Novembre	0,504	4,075	0,240
Décembre	0,466	4,431	0,320
Janvier	0,464	4,577	0,315
Février	0,336	3,448	0,320
Mars	0,292	3,480	0,341
Avril	0,074	1,636	0,311
Mai	0,159	0,825	0,293
Juin	0,121	0,437	0,284
Juillet	0,133	0,414	0,249

PARTIES AÉRIENNES.

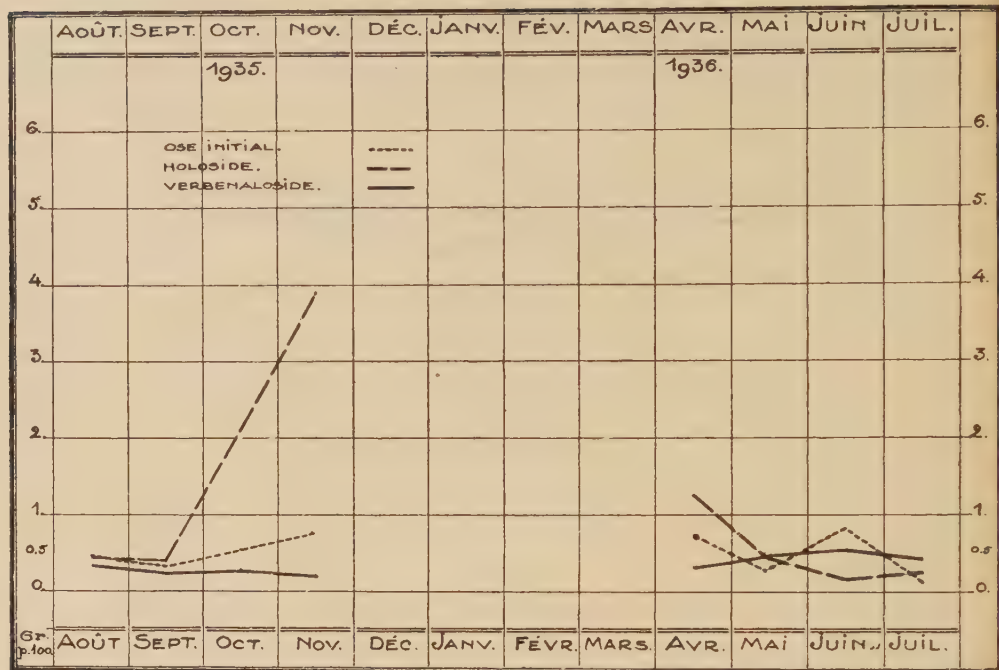
VERBENA OFFICINALIS. L.

FIG. 9. — Variations des glucides dans les parties aériennes de la Verveine officinale au cours de la végétation d'une année.

PARTIES SOUTERRAINES.

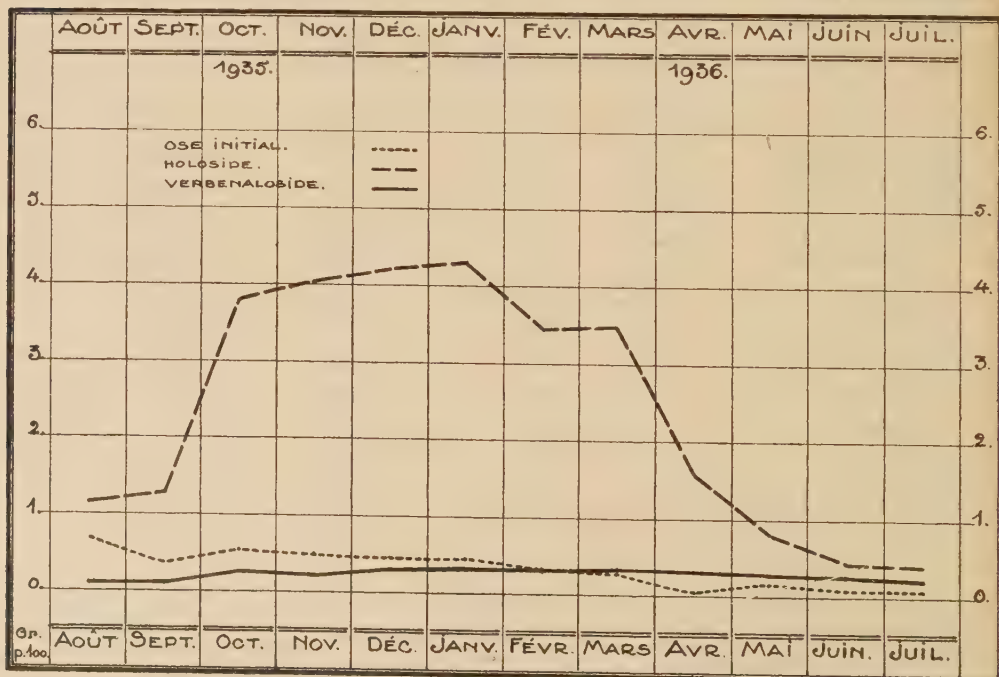
VERBENA OFFICINALIS. L.

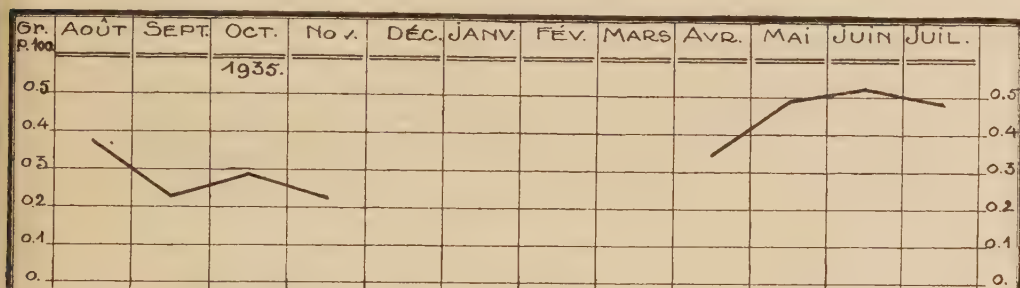
FIG. 10. — Variations des glucides dans les parties souterraines de la Verveine officinale au cours de la végétation d'une année.

INTERPRÉTATION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS

Comme dans l'étude de la teneur comparative en glucides des différents organes de la Verveine (*), j'envisagerai successivement les variations mensuelles rapportées à 100 g. de plantes fraîches et à dix pieds.

VERBENALOSIDE P. 100.GR. DE PLANTE FRAÎCHE.

PARTIES AÉRIENNES.



PARTIES SOUTERRAINES.

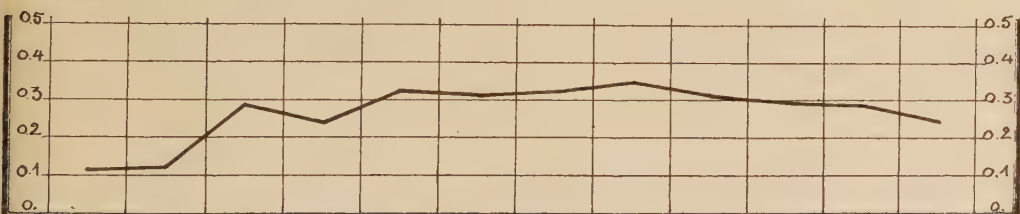


FIG. 11. - Variation du verbénalose dans le *Verbena officinalis* L. au cours de la végétation d'une année.

I. — Chiffres rapportés à 100 g. de tissu frais.

Dans les deux tableaux d'ensemble des pages 211 et 212, j'ai réuni les essais biochimiques portant sur la végétation d'une année (août 1935 à juillet 1936).

Le tableau de la page 213 résume tous ces résultats.

Afin d'exposer plus clairement les variations annuelles

(*) V. p. : 170 et p. : 175.

des glucides je donne trois graphiques, les figures 9 et 10 représentent les variations des glucides dans les parties aériennes et souterraines.

Le graphique 11 redonne à une échelle plus grande les modifications quantitatives du verbénaloside.

Parties souterraines.

a/ *Ose initial*. — Le maximum est atteint en août avec 0 g.,676, le minimum en avril avec 0 g., 074. La teneur diminue d'août à septembre, remonte en novembre, se maintient en plateau jusqu'en janvier, baisse jusqu'à avril pour remonter ensuite légèrement.

b/ *Holoside*. — L'indice se maintient entre **745** (août) et **581** (octobre), pas très éloigné de celui du stachyose (**548**) que j'ai extrait en novembre des racines (*). Il s'agit donc de ce polyose.

L'interprétation des résultats y est très aisée.

De janvier où le maximum du sucre accumulé est atteint (4 g., 577) ce chiffre décroît jusqu'en juillet (0 g., 414) période de la floraison et début de la formation des fruits, cette diminution étant surtout sensible à partir d'avril où la plante pousse rapidement. En août la floraison s'avance, les graines se forment, puis en septembre la floraison s'achève. Dès le mois d'août, on voit le stachyose commencer à augmenter dans la plante, puis l'accroissement des réserves fait plus que tripler la quantité de celui-ci de septembre à octobre. En novembre la plante se fane et le niveau atteint va se maintenir à peu de chose près pendant tout l'hiver de novembre à mars.

Les légères oscillations pendant l'hiver s'expliquent bien par la température assez douce de l'hiver 1935-1936, en effet il est resté au collet quelques rejets qui se sont maintenus verts entre les gelées et qui ont consommé plus ou

(*) V. p. : 164.

moins de réserves selon que la clémence ou la rigueur du temps leur permettait plus ou moins de se développer.

Sur les graphiques fournis c'est cette évolution du stachyose dans les parties souterraines qui est le phénomène le plus marqué. Ce fait est beaucoup plus considérable qu'il n'y paraît car le stachyose est uniquement noté par la quantité de lévulose apparu sous l'action de l'invertine. Pour avoir le chiffre exact en sucres réducteurs pouvant être fournis par l'hydrolyse fermentaire il faudrait multiplier cette quantité par 4,1. (*).

c/ *Verbénalosite*. — Dans l'ensemble, sa variation suit une marche inverse que dans les parties aériennes. Le minimum est en août avec 0 g., 115, le maximum en mars avec 0 g., 341. Il augmente d'août en décembre, se maintient à peu près au même taux pendant tout l'hiver, puis décroît d'avril à juillet.

Il semble bien jouer un rôle de substance de réserve puisqu'il suit à peu près les fluctuations du stachyose, forme de réserve glucidique de la plante s'accumulant dans les racines.

Parties aériennes.

a/ *Ose initial*. — Ce sucre diminue faiblement d'août (0 g., 456) à septembre (0 g., 324) puis remonte jusqu'à novembre (0 g., 764) moment où la plante se fane. Au printemps cette quantité diminue d'avril (0 g., 719) à mai (0 g., 255), remonte en juin (0 g., 849) pour décroître beaucoup à nouveau en juillet (0 g., 146).

b/ *Holoside*. — On peut réunir les chiffres d'holosides trouvés au cours des mois de végétation en deux groupes.

(*) L'invertine ne libère que le fructose à partir du stachyose et ne s'attaque pas au manninotriose (glucose d + galactose d + galactose d) v. p. : 165.

α / premier groupe : holoside à indice élevé durant les mois d'été, juin (2694), juillet (3564), août (2082), septembre (2487). Malgré les différences qui peuvent sembler assez grosses, il s'agit sûrement du même corps, en effet pour de tels indices les variations optiques obtenues sous l'action de l'invertine sont très faibles et les lectures au polarimètre étant souvent d'une précision ne dépassant pas deux minutes, une telle erreur peut entraîner des différences semblables. Cet holoside a été trouvé dans les jeunes plantes, les feuilles, le bourgeon floral, les fruits verts, dans tous les organes verts (*).

Sa quantité exprimée en glucose sous l'action de l'invertine est faible 0 g., 180 en juin, 0 g., 238 en juillet, 0 g., 451 en août, 0 g., 373 en septembre. Donc indice élevé, sucre réducteur fourni par l'hydrolyse en petite quantité.

β / deuxième groupe : holoside à indice voisin de celui du saccharose (603), ou du stachyose (548) ; octobre (642), novembre (665), avril (568), mai (894) durant le printemps et l'automne. L'indice de mai (894) est plus élevé, probablement parce qu'il y a un mélange dans les parties aériennes de ce mois des sucres à faible indice et à indice élevé.

Quel est le sucre contenu pendant ces mois d'automne et de printemps ? J'ai extrait le stachyose des tiges en novembre (**), il s'agit donc certainement de ce sucre peut-être d'ailleurs mélangé de saccharose à certains moments.

A l'automne on voit la quantité de ce sucre augmenter, elle décuple de septembre (0 g., 373), à novembre (3 g., 901) et encore pour le stachyose faudrait-il multiplier ces chiffres par 4,1. Il s'agit d'une mise en réserve dans la tige ou d'une migration vers la racine.

Au printemps, au moment de l'utilisation des réserves

(*) V. p. : 171.

(**) V. p. : 164.

par la plante, cette quantité diminue, avril (1 g., 250), mai (0 g., 447), pour atteindre le chiffre le plus faible de l'année en juin (0 g., 180) qui est le mois du plus grand développement de la plante.

c/ *Verbénalosite*. — En avril (0 g., 346), en mai (0 g., 448), en juin (0 g., 524), ce corps augmente dans les parties aériennes, mais diminue dans les parties souterraines. En juillet, alors que la végétation passe par un maximum, le verbénalosite diminue à la fois dans les parties aériennes et souterraines. S'agit-il d'une utilisation plus grande des réserves ? Non, comme nous le verrons dans l'interprétation des résultats rapportés à dix plantes (*), mais probablement augmentation plus grande encore des autres substances, cellulose par exemple. A partir d'août le verbénalosite diminue dans les parties aériennes jusqu'à l'arrêt de la végétation, durant cette même période il s'accumule dans les parties souterraines.

II. — Chiffres rapportés à dix plantes.

Dans le tableau de la page 220, j'ai résumé les résultats rapportés à dix plantes.

Je donne deux graphiques. La figure n° 12 représente les variations des glucides dans les parties aériennes de dix plantes, la figure n° 13 représente les variations du verbénalosite dans dix pieds de Verveine, et dans les parties aériennes et souterraines correspondantes.

(*) V. p. : 223.

**Variation dans la composition glucidique de *dix* pieds
de *Verbena officinalis* L.
au cours de la végétation d'une année**

(août 1935-juillet 1936)

1. — PARTIES AERIENNES.

	Ose initial	Holoside	Verbénalosite
Août	0g.,967	0g.,956	0g.,799
Septembre	0g.,735	0g.,847	0g.,518
Octobre	1g.,519	5g.,850	0g.,806
Novembre	2g.,047	10g.,455	0g.,611
Avril	0g.,352	0g.,613	0g.,170
Mai	0g.,433	0g.,760	0g.,830
Juin	5g.,119	1g.,085	3g.,160
Juillet	1g.,047	1g.,706	3g.,499

2. — PARTIES SOUTERRAINES.

Août	0g.,155	0g.,271	0g.,026
Septembre	0g.,096	0g.,321	0g.,030
Octobre	0g.,255	1g.,748	0g.,131
Novembre	0g.,287	2g.,323	0g.,137
Décembre	0g.,228	2g.,171	0g.,157
Janvier	0g.,237	2g.,334	0g.,161
Février	0g.,158	1g.,620	0g.,150
Mars	0g.,155	1g.,844	0g.,181
Avril	0g.,038	0g.,834	0g.,159
Mai	0g.,102	0g.,528	0g.,187
Juin	0g.,101	0g.,363	0g.,236
Juillet	0g.,182	0g.,567	0g.,340

3. — PLANTES ENTIERES

Août	1g.,122	1g.,227	0g.,826
Septembre	0g.,831	1g.,168	0g.,547
Octobre	1g.,774	7g.,598	0g.,937
Novembre	2g.,334	12g.,778	0g.,748
Avril	0g.,390	1g.,447	0g.,328
Mai	0g.,535	1g.,288	1g.,017
Juin	5g.,220	1g.,448	3g.,395
Juillet	1g.,229	2g.,273	3g.,839

Parties aériennes de dix plantes.

Les glucides diminuent d'août à septembre, puis les quan-

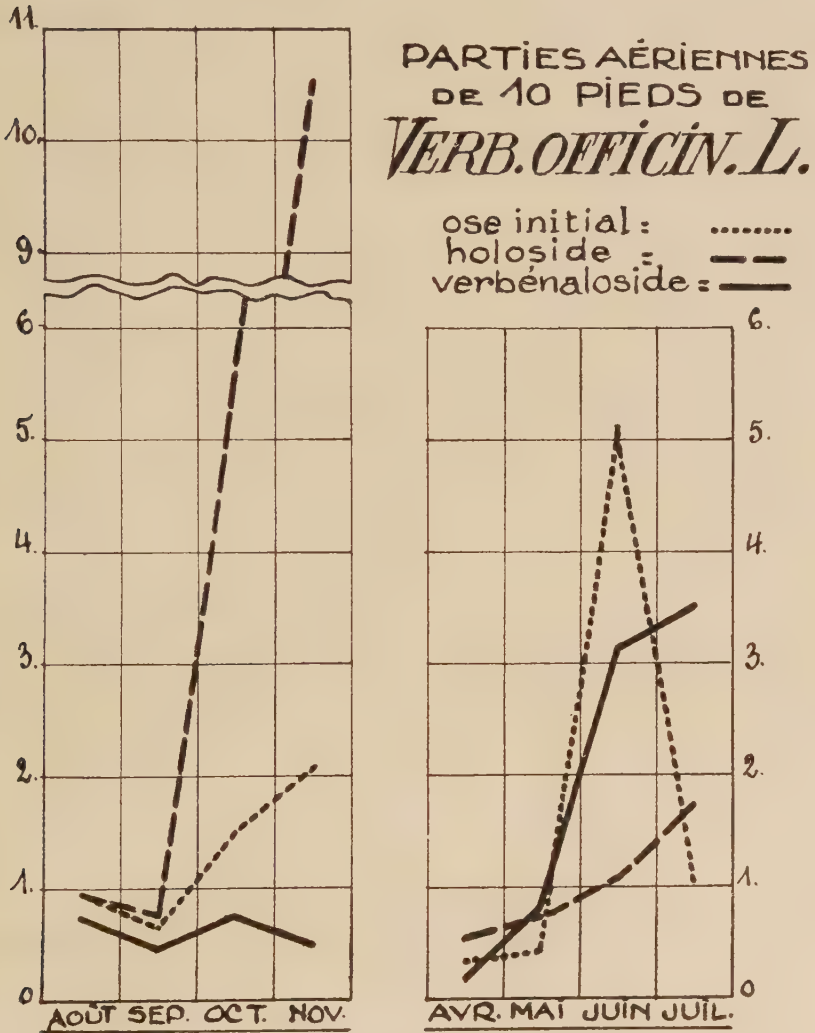


FIG. 12. — Variations des glucides contenus dans les parties aériennes de dix pieds de *Verveine officinale*.

tités augmentent pour les sucres et diminuent pour le verbénaloside. L'augmentation pour l'holoside que nous sa-

vons être du stachyose est considérable. Cet holoside passe de 0 g., 847 à 10 g., 455 (*), s'accumulant dans les tiges d'où j'ai pu l'extraire en novembre. (**).

D'avril où la végétation repart, jusqu'en mai, l'augmen-

VERBENALOSIDE CONTENU DANS 10 PIEDS.

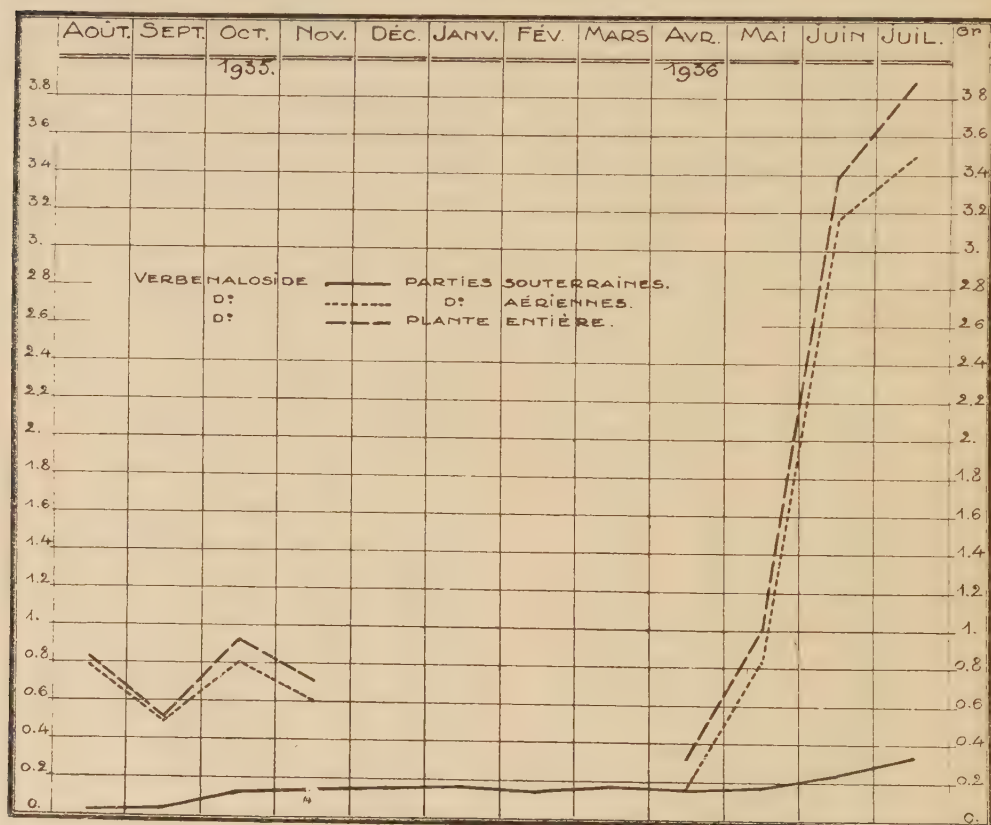


FIG. 13. — Évolution du verbénalose dans dix plantes.

tation des glucides est faible ; elle est considérable en juin. Ce mois marque le point culminant de l'ose initial qui baisse brusquement de juin à juillet (5 g., 119

(*) Ces chiffres devant être multipliés par 4,1 pour représenter la teneur véritable en stachyose v. p. : 149.

(**) V. p. : 164.

à 1 g., 047). L'holoside augmente régulièrement d'avril à juillet. Le verbénaloside augmente aussi jusqu'en juillet, mais l'augmentation surtout rapide de mai à juin est freinée en juillet.

Parties souterraines de dix plantes.

Dans ces organes vivaces de la Verveine, on voit l'ose initial se maintenir en plateau d'octobre à janvier, puis la quantité de ce sucre diminue. Cette baisse correspond à de faux départs de la végétation entre deux périodes de gelées. En avril la reprise de la végétation entraîne une diminution plus considérable mais à partir de mai la teneur en sucre réducteur augmente à nouveau.

La mise en réserve du stachyose se fait d'août à novembre, cette teneur reste constante jusqu'à janvier, puis elle baisse régulièrement jusqu'en juin passant de 2 g., 334 en janvier à 0 g., 363 en mai, en juillet les réserves étant utilisées pour l'édification de la plante ; la plante ayant atteint son maximum de développement, l'accumulation des réserves dans les parties souterraines recommence.

Le verbénaloside augmente régulièrement d'août à juillet et semble être plus ou moins proportionnel à l'augmentation de poids.

ARGUMENTS EN FAVEUR DE L'UTILISATION DU VERBÉNALOSIDE PAR LE VERBENA OFFICINALIS L.

I. — *Le verbénaloside diminue dans les organes vivaces au moment de la reprise de la végétation :*

a/ dans l'étude du verbénaloside p. 100 g. de tissus frais ce corps diminue dans les parties souterraines dès l'apparition des parties vertes et la baisse s'y poursuit jusqu'en juillet (*) :

b/ dans l'étude par dix pieds, on constate une légère

(*) V. p. : 217.

baisse de ce corps de mars à avril, époque du vrai départ de la végétation (*).

2. — *Le verbénaloside semble se former au cours de l'assimilation chlorophyllienne.*

Les organes verts : feuilles, bourgeons, fruits verts sont beaucoup plus riches en verbénaloside que la graine, la tige et la racine (**). A cela, on peut objecter que ce corps pourrait être un déchet accompagnant les transformations successives des substances produites au cours de cette assimilation.

3. — *Le verbénaloside s'accumule au moment de la pleine végétation, à l'époque de la floraison.*

C'est au début de la floraison, en juin, que la teneur maximum d'hétéroside p. 100 g. est atteinte. Dans l'étude des dix plantes cet hétéroside augmente régulièrement d'avril à juillet (***).

4. — *Le verbénaloside diminue au cours de la formation des organes reproducteurs.*

Ce fait est très net dans l'étude de la teneur p. 100 des organes reproducteurs de la Verveine. Le bourgeon terminal de la hampe florale contient trois fois plus d'hétéroside que la fleur, huit fois plus que les fruits et quarante cinq fois plus que la graine (teneur p. 100 g. de tissu sec) (****).

Dans l'étude portant sur mille boutons floraux, mille fleurs, mille fruits et quatre milles graines le verbénaloside augmente du bouton floral à la fleur, de la fleur au fruit mais diminue considérablement dans la graine. (*****) On peut objecter à cela que l'hétéroside a pu rester dans

(*) V. p. : 222.

(**) V. p. : 170.

(***) V. p. : 215 et p. : 221.

(****) V. p. : 171.

(*****) V. p. : 176.

l'enveloppe du fruit. De plus on peut se demander ce qu'il est devenu ? A-t-il été brûlé par les tissus, transformé ou utilisé pour l'édification de cellules nouvelles ?

5. — *Le verbénaloside s'accumule à l'automne dans les racines, seules parties vivaces de la plante.*

Il s'accumule en même temps que le stachyose, il est difficile de prendre le sucre pour une substance de réserve et de refuser le même rôle à l'hétéroside qui l'accompagne. Cet argument se complète par la diminution déjà vue de l'hétéroside dans ces mêmes parties souterraines au départ de la végétation. (*)

6. — *Le verbénaloside s'accumule dans le bourgeon floral.*

Or, on sait que cet organe est généralement riche en matières utilisables par les organes reproducteurs qui vont se développer. (**)

7. — La poudre fermentaire de Verveine officinale hydrolyse le saccharose, le stachyose et l'holoside d'indice élevé contenu à certaines époques dans les parties aériennes. Elle dédouble également le verbénaloside, ce qui peut être pour la plante le moyen d'en utiliser le glucose et peut-être l'aglucone.

8. — Les holosides diminuent au cours de la dessiccation de la Verveine ; le verbénaloside également. Si l'on admet que les holosides sont utilisés par les cellules végétales durant la vie ralentie précédant la mort, il est difficile de ne pas admettre un rôle semblable pour l'hétéroside.

9. — *Le verbénaloside est utilisé par les moisissures.* Dans la deuxième thèse [42 p. 9] on voit que le *Ste-*

(*) V. p. : 215 et p. : 217.

(**) V. p. : 173.

rigmatocystis nigra est capable d'utiliser le verbénaloside pour l'édification de son mycélium. Cet argument n'a pas une très grande valeur, les phénomènes de nutrition de la plante et de la moisissure étant très différents. On peut retenir toutefois l'absence ou le peu de toxicité de ce corps aussi bien pour les champignons inférieurs que pour les animaux supérieurs. [42 p. 9 à p. 22].

Ce faisceau d'arguments paraît bien être en faveur de l'utilisation du verbénaloside par la Verveine officinale. (*).

(*) Des études parues sur la question toujours controversée du glucoside substance de réserve ou matière de déchet, il semble que l'on doive se garder de généralisation hâtive, certains hétérosides jouant un rôle manifeste de substances utilisables, d'autres jouant plutôt un rôle d'excrétion. Sur ce sujet on consultera : R. COMBES [43-44], A. GORIS [54], H. HÉRISSEY [58], M. BRIDEL [30].

CHAPITRE III

RECHERCHE DU VERBÉNALOSIDE DANS LE GENRE VERBENA

<i>Espèces traitées</i>	<i>Pays d'origine</i>
Verbena Aubletia L.	Amérique du Nord.
— bonariensis L.	Région tropicale.
— canadensis BRIT.	Amérique du Nord.
— erinoïdes LAMARK, ...	Amérique du Sud.
— hastata L.	Amérique du Nord.
— hispida R. et PAV.	Amérique du Sud.
— littoralis H. B. et K.	Amérique tropicale.
— prostrata R. BR.	Amérique du Nord.
— pulchella SWEET, ...	Amérique du Sud.
— supina L.	Amérique tropicale.
— stricta VENT.	Amérique du Nord.
— tenera SPRENG.	Amérique du Sud.
— teucrioïdes HOOKER	Amérique du Sud.
— urticæfolia L.	Amérique tempérée et tropicale.
— venosa GILL. et Hook. ...	Amérique du Sud.

RECHERCHE DU VERBÉNALOSIDE DANS LE GENRE VERBENA

Le genre *Verbena* possède une seule espèce vivant dans nos régions, le *Verbena officinalis* L. qui a fait l'objet des chapitres précédents, par contre la flore américaine possède de nombreuses Verveines différentes.

Une de ces espèces le *V. venosa* GILL et HOOK. est cultivée en Europe comme plante ornementale ainsi que de nombreuses Verveines hybrides. Les autres espèces y sont rares même dans les jardins botaniques (*).

Des essais biochimiques ont été faits sur quinze Verveines exotiques et dans deux cas, *V. bonariensis* L. et *venosa* GILL. et HOOK. la quantité de plantes étant suffisante j'ai pu tenter des extractions de glucides.

Voici les essais biochimiques portant sur les différentes Verveines :

(*) Grâce à l'amabilité de M. CAMILLE GUINET, jardinier-chef au Muséum d'Histoire Naturelle, j'ai pu me procurer les graines nécessaires aux cultures de la majorité des plantes utilisées dans les expériences suivantes.

Je l'en remercie vivement.

Verbena Aubletia JACQ. (*) Amérique boréale

Origine : Ecole nationale d'Horticulture de Versailles. —
Août 1935.

Partie traitée : plante entière avec fleurs et fruits.

— 6 pieds pèsent 300 g. — Matière sèche p. 100 : 18.

Déviatiou 1=2.

initiale	+ 21'
après invertine	— 2'
après émulsine	+ 11'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	0g.,2211
après invertine	0g.,5720
après émulsine	0g.,8498

Par invertine :

recul	23'
sucre formé	0g.,3509
INDICE	915

Par émulsine :

retour	13'
sucre formé	0g.,2778
INDICE	1282

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de
Verbena Aubletia JACQ. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 2211.
2. — Sucre dédoublable par l'invertine : 0g., 3509 (indice : 915), différent du saccharose (indice : 603).
3. — Un hétéroside dédoublable par l'émulsine (indice : 1282) en petite quantité.
4. — Pas de verbénalosite.

(*) *Verbena Aubletia* JACQ. est considérée par certains comme une variété horticole de *Verbena canadensis* BRIT. (v. essai plus loin).
On verra en comparant les chiffres de ces deux essais qu'ils sont très différents, ces dissemblances proviennent peut-être de la culture, ou plus vraisemblablement d'une hybridation de cette variété de *V. canadensis* avec d'autres *Verbena*.

Verbena bonariensis L. Région tropicale.

Origine : Museum d'Histoire Naturelle. — Septembre 1935.

Partie traitée : parties aériennes avec fleurs.

— Matière sèche p. 100 : 34.

Déviatiou 1 = 2.

initiale	+ 2°56'
après invertine	+ 1°30'
après émulsine au 3° jour.....	+ 1°41'
au 30° jour.....	+ 1° 3'
au 51° jour.....	+ 54'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	0g.,3102
après invertine	1g.,2751
après émulsine au 3° jour.....	1g.,3224
au 30° jour.....	1g.,6484
au 51° jour.....	1g.,6764

Par invertine :

recul	1°26'
sucré formé	0g.,9649
INDICE	673

Par émulsine :

au 3° jour :

retour	11'
sucré formé	0g.,0473
INDICE	258

Par émulsine :

au 51° jour :

recul	47'
sucré formé	0g.,4013

Interprétation des résultats.

1. — Sucre réducteur initial : 0 g., 3102.

2. — Par l'invertine : présence d'un holoside d'indice **673**.

On pourrait penser à la présence de saccharose (indice **603**),
sucré formé : 0 g., 9649, mais la déviation restant dextrogyre

laisse supposer l'existence d'un oside dédoublable incomplètement par l'invertine. Cet oside, pouvant d'ailleurs être accompagné par du saccharose.

3. — L'action de l'émulsine s'est opérée en deux temps :

0 g., 25 de ferment p. 100 cm³ pendant 3 jours, puis 0 g., 50 p. 100 pendant 51 jours.

Le premier essai montre la présence d'un hétéroside, la déviation augmentant vers la droite de 11' puis au 2^e temps, elle revient vers la gauche (de 47' au 51^e jour). Le sucre réducteur apparu augmente régulièrement jusqu'à la fin.

Il y a donc d'abord dédoublement de l'hétéroside, puis dédoublement plus lent de l'holoside déjà attaqué par l'invertine. Ce que nous avons déjà vu à propos du *Verbena officinalis* nous permet de croire à la présence du *stachyose*.

4. — Pas de verbénaloside.

5. — La poudre fermentaire de *Verbena bonariensis* et la géosidase n'ont pas d'action après celle de l'émulsine.

Essai d'isolement de l'hétéroside du *Verbena bonariensis*.

Un extrait alcoolique est fait, selon la technique habituelle, à partir de 1.000 g. de *V. bonariensis* récoltés à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles en août 1936.

Cet extrait est repris par de l'eau distillée q. s. p. 1000cm³. La solution est déféquée au sous-acétate de plomb et l'excès de ce dernier éliminé par l'acide sulfurique au dixième. Le liquide neutralisé est distillé à sec dans le vide.

L'extrait ainsi obtenu est épuisé à plusieurs reprises par de l'acétone hydratée. Au cours du refroidissement de ces solutions il se forme de belles aiguilles cristallines. Ces cristaux sont recueillis.

Diagnose des cristaux : aiguilles à saveur fraîche, défla-grant légèrement à la flamme, solubles dans l'eau.

La solution est dépourvue de pouvoir rotatoire et n'est pas réductrice.

Cette solution donne les réactions des nitrates :

a) coloration bleue par le sulfate de diphenylamine,

b) coloration rouge grenat par le réactif hydrostrychnique de DENIGÈS en présence d'acide sulfurique.

Elle donne également les réactions de sels de potassium :

- a) coloration violacée de la flamme,
- b) précipité cristallin par addition de solution d'acide picrique.

Il s'agit de cristaux de *nitrate de potassium*.

Les liqueurs acétoniques donnent par distillation un extrait qui est repris à plusieurs reprises par de l'ester acétique anhydre.

Malgré de nombreux essais, ces solutions ne cristallisent pas, la première avait une déviation ($\alpha = -1^{\circ}7'$). Après plusieurs mois elles sont réunies, distillées et le résidu obtenu repris par 30 cm³. d'eau distillée.

Sur cette solution aqueuse j'ai fait agir l'émulsine pendant 17 jours à l'étuve à 33°. Voici les résultats obtenus.

Au départ $\alpha = -8^{\circ}$, 30 cm³. = 0 g., 2637 de glucose.

Après 17 jours $\alpha = -2^{\circ}24'$, 30 cm³. = 0 g., 4714 de glucose.

Retour de la déviation : $5^{\circ}36'$

Sucre formé : 0 g., 2077

Conclusions. — Cet hétéroside n'est pas du verbénaloside, la quantité de sucre donnée par l'émulsine étant trop forte pour cela.

Si l'on suppose que le sucre formé constitue 50 p. 100 de la molécule, il y aurait environ 4 g. d'hétéroside au kg. de plante fraîche, quantité assez importante pour l'extraction de ce corps. Faute de matière première je n'ai pu continuer ces essais.

Verbena canadensis BRIT. Amérique du Nord.

Origine : graines provenant du jardin botanique de New Haven, cultivées à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles.

Partie traitée : plante entière fleurie. Août 1936.

— 10 pieds pèsent : 58 g. — Matière sèche p. 100 : 23.

Déviatiou l=2.

initiale	— 40'
après invertine	— 44'
après émulsine	+ 42'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,4624
après invertine	0g.,6278
après émulsine	0g.,8786

Par invertine :

recul	4'
sucré formé	0g.,1654
INDICE	2481

Par émulsine :

retour	1°26'
sucré formé	0g.,2508
INDICE	174

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena canadensis* BRIT. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Ose initial : 0 g., 4264.
2. — Holoside d'indice élevé (**2481**) : 0 g., 1654.
3. — Un hétéroside dédoublable par l'émulsine en petite quantité (indice : **174**). Pas de verbénaloside.

Verbena erinoïdes LAMARK. Amérique australe-Pérou.

Origine : Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles. —
Août 1935.

Partie traitée : plante entière avec fleurs et fruits.

— 4 pieds pèsent 435 g. — Matière sèche p. 100 : 22.

Déviatiou I=2.

initiale	— 7'
après invertine	— 32'
après émulsine	+ 14'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,1716
après invertine	0g.,4224
après émulsine	0g.,7064

Par invertine :

recul	25'
sucre formé	0g.,2508
INDICE	601

Par émulsine :

retour	46'
sucre formé	0g.,2840
INDICE	370

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena erinoïdes* LAMARK et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 1716.
2. — Saccharose : 0 g., 2382 (indice : 601).
3. — Un hétéroside dédoublable par l'émulsine en petite quantité (indice : 370).
4. — Pas de verbénaloside.

***Verbena hastata* L. Amérique du Nord.**

Origine : graines provenant du jardin botanique de Copenhague, cultivées à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles.

Partie employée : jeunes plantes entières prises au début de la floraison. — Juillet 1935.

— 10 pieds pèsent : 67 g. — Matière sèche p. 100 : 16.

Déviatiun l=2.

initiale	—	54'
après invertine	—	1°
après émulsine	+	42'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,4108
après invertine	0g.,6292
après émulsine	0g.,6292

Par invertine :

recul	6'
sucré formé	0g.,2184
INDICE	21840

Par émulsine :

retour	1°42'
sucré formé	0
INDICE	0

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena hastata* L. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Ose initial : 0 g., 4108.
2. — Holoside d'indice très élevé (21840) : 0 g., 2184.
3. — Hétéroside d'indice caractéristique du verbénaloside (0). Calculé en verbénaloside : 0 g., 4533.

Verbena hispida R. et PAV. Amérique australe.

Origine : Museum d'Histoire Naturelle. — Septembre 1935.

Partie traitée : parties aériennes.

— Matière sèche p. 100 : 32.

Déviatiou l=2.

initiale	+ 1°55'
après invertine	+ 44'
après émulsine au 3° jour.....	+ 57'
au 30° jour.....	+ 33'
au 51° jour.....	+ 33'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	0g.,5777
après invertine	1g.,3613
après émulsine au 3° jour.....	1g.,4130
au 30° jour.....	1g.,7008
au 51° jour.....	1g.,6998

Par invertine :

recul	1°11'
sucre formé	0g.,7836
INDICE	662

Par émulsine :

au 3° jour :

retour	13'
sucre formé	0g.,0517
INDICE	238

au 30° jour :

recul	24'
sucre formé	0g.,3395

Interprétation des résultats.

1. — Sucre réducteur initial : 0 g., 5777.

2. — Holoside dédoublé par l'invertine d'indice 662, malgré l'indice assez voisin, il ne s'agit pas du saccharose, la rotation reste droite, et cet holoside va être aussi touché par l'émulsine. Sucre réducteur apparu : 0 g., 7836.

3. — L'action de l'émulsine s'est opérée en deux temps :
0 g., 25 de ferment p. 100 cm³ pendant 3 jours, puis 0 g., 50
p. 100 cm³ durant 51 jours.

Tout d'abord, la déviation gagne vers la droite 13' (3^e jour)
puis elle revient vers la gauche de 24' au 30^e jour.

Le pouvoir réducteur augmente constamment jusqu'au 30^e
jour.

Il y a donc d'abord un hétéroside dédoublé par l'émulsine,
puis l'holoside déjà touché par l'invertine est hydrolysé.

Ce que nous avons déjà vu, (*) au cours de plusieurs essais
nous permet de croire ici aussi à la présence de stachyose.

4. — Pas de verbénaloside.

5. — Après l'action de l'émulsine, l'addition de poudre fer-
mentaire de *Verbena hispida* ou de géosidase n'entraîne pas de
modification.

(*) V. p. : 168 et p. : 231.

Verbena littoralis H. B. et K. Amérique tropicale.

Origine : graines provenant du jardin botanique de Brunswick, cultivées à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles.

Partie traitée : jeunes plantes cueillies au début de la floraison. Juillet 1936.

— 10 pieds pèsent : 75 g. — Matière sèche p. 100 : 15.

Déviatiou 1=2.

initiale	— 38'
après invertine	— 40'
après émulsine	+ 42'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,4284
après invertine	0g.,4904
après émulsine	0g.,5152

Par invertine :

recul	2'
sucre formé	0g.,0620
INDICE	1860

Par émulsine :

retour	1°22'
sucre formé	0g.,0248
INDICE	18

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena littoralis* H. B. et K. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Matières réductrices initiales : 0g.,4284.

2. — Holoside d'indice élevé (1860) en très faible quantité : 0g.,0620.

3. — Hétéroside d'indice très petit (18) pouvant être du verbénalosite, retour de la déviation (1°22'). Calculé en verbénalosite : 0g.,3644.

La solution alcoolique extractive a été abandonnée au repos en lieu frais. Au bout d'un mois, quelques cristaux s'étaient déposés sur les parois du flacon, plaques rectangulaires ou

hexagonales de couleur rougeâtre. Ces cristaux, recueillis sur un petit filtre, étaient en quantité trop faible pour permettre un essai assez complet. Ils étaient solubles dans l'alcool et dans l'éther en donnant une liqueur jaune d'or; la liqueur étherée évaporée abandonne des cristaux en aiguilles. Il s'agit peut-être d'un glucoside flavonique, car, dissous dans quelques gouttes d'alcool absolu et additionnée de deux gouttes de soude N/10, la couleur jaune augmente; et une autre portion de la solution donne avec une goutte de perchlorure de fer au dixième une légère couleur brune.

Verbena prostrata R. BR. Amérique du Nord.

Origine : graines provenant du Museum d'Histoire Naturelle de Paris, cultivées à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles.

Partie traitée : plantes entières cueillies au début de la floraison. Juillet 1936.

— 10 pieds pèsent : 80 g. — Matière sèche p. 100 : 14.

Déviatiou l=2.

initiale	— 1° 44'
après invertine	— 1° 50'
après émulsine	+ 14'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,4824
après invertine	0g.,5592
après émulsine	0g.,5968

Par invertine :

recul	6'
sucre formé	0g.,0768
INDICE	768

Par émulsine :

retour	2° 4'
sucre formé	0g.,0768
INDICE	37

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena prostrata* R. BR. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Matières réductrices initiales : 0 g., 4824.

2. — Holoside d'indice **768** pouvant être constitué en grande partie par du saccharose : 0g.,0768.

3. — Hétéroside de faible indice (**37**) pouvant être du verbénaloside (retour de la déviation : 2° 4'). Calculé en verbénaloside : 0g.,550.

La solution alcoolique extractive est laissée au repos en lieu frais. Au bout d'un mois il s'était déposé sur les parois du fla-

con quelques cristaux en formes de plaques rectangulaires jaune-rougeâtre. Ces cristaux, recueillis sur un petit filtre, étaient en quantité trop faible pour permettre une diagnose. Ils étaient solubles dans l'alcool et dans l'éther en donnant une solution jaune d'or.

Il s'agit probablement d'un glucoside flavonique, car, dissous dans quelques gouttes d'alcool absolu, et additionné de deux gouttes de soude N/10, la couleur jaune augmente; une autre portion de la solution donne avec une goutte de perchlorure de fer au dixième une légère couleur tirant sur le vert.

Verbena pulchella SWEET. Amérique australe.

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. Août 1934.

Partie traitée : plante fleurie, entière avec racines.

— 100 pieds pèsent : 260 g. — Matière sèche p. 100 : 26.

Déviatiun 1=2.

initiale	— 2'
après invertine	— 36'
après émulsine	— 8'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	0g.,2292
après invertine	0g.,5683
après émulsine	0g.,8322

Par invertine :

recul	34'
sucré formé	0g.,3391
INDICE	598

Par émulsine :

retour	28'
sucré formé	0g.,2369
INDICE	565

Après l'action de l'émulsine, l'addition de poudre fermentaire de *Verbena pulchella* ou de géosidase n'entraîne pas de modification.

Interprétation des résultats.

1. — Présence de 0 g., 2292 de sucres réducteurs initiaux.
2. — Présence de 0 g., 3221 de saccharose (indice : 598).
3. — Présence d'un hétéroside dédoublable par l'émulsine (indice : 565) en quantité suffisante pour en faire l'extraction ; si l'on admet que le sucre réducteur constitue 50 p. 100 de la molécule, il y en aurait environ 5 g. au kg. de plante verte.
4. — Pas de verbénaloside.

***Verbena stricta* VENT.** Amérique du Nord.

Origine : graines provenant du jardin botanique de Zurich, cultivées à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles.

Partie employée : plante entière fleurie. Août 1935.

— 10 pieds pèsent : 500 g. — Matière sèche p. 100 : 21.

Déviatiou l=2.

initiale	— 3°22'
après invertine	— 3°26'
après émulsine	+ 17'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,9653
après invertine	1g.,1694
après émulsine	1g.,3442

Par invertine :

recul	4'
sucre formé	0g.,2041
INDICE	3061

Par émulsine :

retour	3°43'
sucre formé	0g.,1748
INDICE	7

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena stricta* VENT. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Matières réductrices initiales : 0 g., 9653.
2. — Holoside à indice élevé (3061) : 0 g., 2041.
3. — Hétéroside d'indice très faible (7), probablement du verbénaloside (retour de la déviation : 3°43'). Calculé en verbénaloside : 0 g., 9910. La coloration vert noir que prend la liqueur cupro-alcaline au cours de la réduction est un indice de plus en faveur de la présence de ce corps dans le *Verbena stricta* VENT. Faute d'une quantité suffisante de plante, je n'ai pu tenter l'extraction du verbénaloside.

Verbena supina L. Amérique tropicale.

Origine : graines provenant du jardin botanique de Barcelone, cultivées à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles.

Partie traitée : plante entière fleurie. Août 1936.

— 10 pieds pèsent : 162 g. — Matière sèche p. 100 : 25.

Déviatiou l=2.

initiale	— 1° 4'
après invertine	— 1° 6'
après émulsine	+ 42'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,2376
après invertine	0g.,3686
après émulsine	0g.,4312

Par invertine :

recul	2'
sucre formé	0g.,1310
INDICE	3930

Par émulsine :

retour	1°48'
sucre formé	0g.,0626
INDICE	34

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena supina* L. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Ose initial : 0 g., 2376.
2. — Holoside d'indice élevé (3930) en petite quantité : 0 g., 1310.
3. — Hétéroside pouvant être du verbénaloside (indice : 34).
Calculé en verbénaloside : 0 g., 4800.

Verbena tenera SPRENG. Amérique du Sud.

Origine : graines provenant du « *Hortus botanicus Universitatis J. PILSUDSKII* » Varsovie, cultivées à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles.

Partie traitée : plante entière fleurie. Juin 1936.

— 10 pieds pèsent : 90 g. — Matière sèche p. 100 : 21.

Déviatiôn l=2.

initiale	± 0
après invertine	— 32'
après émulsine	+ 2'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,3024
après invertine	0g.,6584
après émulsine	0g.,9100

Par invertine :

recul	32'
sucré formé	0g.,3560
INDICE	667

Par émulsine :

retour	34'
sucré formé	0g.,2516
INDICE	444

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena tenera* SPRENG. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Sucre réducteur initial : 0 g., 3024.
2. — Saccharose : 0 g., 3382 (indice trouvé : 667).
3. — Un hétéroside dédoublable par l'émulsine (indice : 444) en petite quantité.
4. — Pas de verbénalosite.

Verbena teucrioïdes HOOKER. Amérique du Sud.

Origine : graines provenant du jardin botanique de Brunswig, cultivées à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles.

Partie traitée : jeunes plantes récoltées au début de la floraison, Juillet 1936.

— 10 pieds pèsent : 75 g. — Matière sèche p. 100 : 18.

Déviatiou l=2.

initiale	— 1°14'
après invertine	— 1°18'
après émulsine	+ 22'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,5192
après invertine	0g.,7264
après émulsine	0g.,7588

Par invertine :

recul	4'
sucre formé	0g.,2072
INDICE	3108

Par émulsine :

retour	1°40'
sucre formé	0g.,0324
INDICE	18

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena teucrioïdes* HOOKER et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Ose initial : 0 g., 5192.
2. — Holoside d'indice élevé (**3108**) : 0 g., 2708.
3. — Hétéroside ayant l'indice caractéristique du verbénaloside (**18**). Calculé en verbénaloside : 0 g., 1776.

Verbena urticæfolia L. Amérique tempérée et tropicale.

Origine : graines provenant du jardin botanique de Copenhague, cultivées à l'Ecole Nationale d'Horticulture de Versailles.

Partie traitée : plante entière fleurie. Août 1936.

— 10 pieds pèsent : 1483 g. — Matière sèche p. 100 : 24.

Déviatiôn l=2.

initiale	+ 1° 6'
après invertine	— 2'
après émulsine	+ 1°44'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,8168
après invertine	1g.,7640
après émulsine	1g.,9280

Par invertine :

recul	1°8'
sucré formé	0g.,9472
INDICE	836

Par émulsine :

retour	1°46'
sucré formé	0g.,1640
INDICE	93

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Verbena urticæfolia* L. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Ose initial : 0 g., 8168.
2. — Holoside d'indice **836** : 0 g., 9472.
3. — Hétéroside d'indice faible (**93**), mais déjà assez éloigné de celui du verbénaloside; il s'agit peut-être d'un mélange de ce corps avec un autre hétéroside d'indice plus élevé. Retour de la déviation : 1°46'.

Verbena venosa GILL. et HOOK. Amérique australe.

Origine : Château de Versailles. Octobre 1934.

Partie traitée : plante fleurie, entière avec racines.

— Matière sèche p. 100 : 28. — 3 pieds pèsent : 600 g.

Déviatiou 1=2.

initiale	+ 2°36'
après invertine	+ 1°22'
après émulsine 2 ^e jour	+ 1°38'
4 ^e jour	+ 1°28'
9 ^e jour	+ 1°14'
17 ^e jour	+ 1° 3'
40 ^e jour	+ 53'
60 ^e jour	+ 44'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	0g.,3096
après invertine	1g.,1464
après émulsine 2 ^e jour	1g.,2648
4 ^e jour	1g.,2841
9 ^e jour	1g.,3862
17 ^e jour	1g.,4317
40 ^e jour	1g.,5376
60 ^e jour	1g.,5500

Par invertine :

recul	1°14'
sucre formé	0g.,8368
INDICE	678

Par émulsine

au 2^e jour :

retour	16'
sucre formé	0g.,1184
INDICE	444

au 60^e jour :

recul	54'
sucre formé	0g.,4036

La poudre fermentaire de *Verbena venosa* et la géosidase n'ont pas d'action sur la solution extractive après l'émulsine.

Interprétation des résultats.

1. — Présence de 0 g., 3096 d'oses initiaux.
2. — Présence d'un holoside dédoublable par l'invertine (sucre apparu : 0 g., 8368).

3. — Comme dans plusieurs essais précédents, l'action de l'émulsine s'exerce sur deux corps, d'abord sur un hétéroside (retour de la déviation : 16' au 2^e jour), puis sur un holoside touché partiellement par l'invertine, (recul de la déviation : 54' au 60^e jour). La présence du stachyose dans d'autres Verbénacées (*) fait supposer son existence dans le *Verbena venosa*.

La solution déféquée est rose dans les premiers jours qui suivent l'action de l'émulsine ; puis cette coloration décroît, et dès le 9^e jour disparaît. Après traitement par l'émulsine, la liqueur d'hydrolyse a beaucoup foncé par rapport à la solution témoin.

4. — Présence d'un hétéroside différent du verbénaloside (indice 444), en petite quantité.

(*) V. p. : 168, 231 et p. : 237.

L'essai précédent, effectué sur des plantes entières de *Verbena venosa*, ayant montré la présence de stachyose, j'ai recherché, avant de tenter l'extraction de ce glucide, la teneur en ce corps des racines et des tiges souterraines. Les études faites sur la Verveine officinale (*) ont montré la richesse en stachyose des parties souterraines de cette plante.

*
**

Verbena venosa GILL. et HOOK.

Origine : Château de Versailles. — Novembre 1935.

Partie traitée : racines et tiges souterraines.

Déviatiou l=2.

initiale		+ 18°42'
après invertine		+ 12°28'
après émulsine		
a/ 0 g.,25 p. 100cm3. :	3° jour :	+ 12°59'
t = 22°	: 9° jour :	+ 12°18'
b/0 g., 50 p. 100 cm3		
+ 0 cm3., 10 CH ₃ COOH :	28° jour :	+ 12°12'
t = 33°	: 39° jour :	+ 11°10'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	0g.,8329
après invertine	4g.,7168
après émulsine 3° jour	4g.,8111
28° jour	4g.,9357
39° jour	4g.,9764

Par invertine :

recul	6°14'
sucre formé	3g.,8839
INDICE	623

Par émulsine

au 3° jour :

retour	31'
--------------	-----

(*) V. p. : 164.

sucre formé	0g.,0943
INDICE	182
au 39 ^e jour :	
recul	1°49'
sucre formé	0g.,2596

Interprétation des résultats.

1. — Ose initial : 0 g., 8329.

2. — Par invertine, holoside dédoublable d'indice **623**, ose apparu : 4 g., 7168.

3. — L'action de l'émulsine s'est opérée en deux temps :

a/ — 0 g., 25 de ferment p. 100 cm³ à la température de 22°, ce qui a permis de constater la présence d'un hétéroside, la déviation gagnant vers la droite (31' au 3^e jour).

b/ — 0 g., 50 d'émulsine et 0 cm³., 10 d'acide acétique p. 100 cm³ (*). à une température de 33°, la rotation revient vers la gauche (de 1°49' au 39^e jour), le pouvoir réducteur, lui, augmente régulièrement.

Il y a donc superposition d'une action rapide sur l'hétéroside et d'une action beaucoup plus lente sur le stachyose. Ce dernier est en quantité suffisante dans les parties souterraines du *Verbena venosa* pour que l'extraction soit essayée.

La liqueur d'hydrolyse par l'émulsine est rose après défécation, phénomène déjà signalé dans l'essai biochimique sur la plante entière.

La liqueur d'hydrolyse par l'émulsine a beaucoup noirci par rapport à la solution témoin.

4. — Pas de verbénaloside, mais un hétéroside d'indice **182** en petite quantité.

EXTRACTION DU STACHYOSE DES PARTIES SOUTERRAINES DE VERBENA VENOSA GILL. ET HOOK.

Un extrait alcoolique de 150 g. obtenu à partir de 1.200 g. de parties souterraines, à l'exception des vieilles souches,

(*) J. VINTILESCO [107], a montré que la présence d'acide acétique, à cette dose, active considérablement l'action de l'émulsine sur le manninotriose.

provenant du Château de Versailles (7 nov. 1935), est repris par 10 fois son poids d'eau et déféqué par 100 cm³. de sous-acétate de plomb.

L'excès de plomb est enlevé par addition d'acide sulfurique au dixième. Le liquide filtré précédent est versé sur 150 g. d'hydrate de baryum pulvérisé et le tout mélangé au mortier. Après filtration, le liquide clair (1500 cm³.) est additionné de 6.000 cm³. d'alcool à 85°. Le volumineux précipité blanc obtenu, essoré et lavé avec un litre d'alcool à 90° pèse 345 g. Il est dissous dans 5 fois son poids d'eau. Combinaison barytique décomposée par addition ménagée d'acide sulfurique au dixième et l'excès d'acide neutralisé par du carbonate de calcium. Après ébullition pour précipiter le carbonate de baryum et filtration, le liquide est distillé à sec sous pression réduite.

Extrait repris successivement par de l'alcool à 95°, 90° et 85°.

J'obtiens ainsi 36 g. de sucre qui sont recristallisés dans l'alcool à 85°.

Caractérisation du sucre. — Les déterminations sont conduites parallèlement avec du stachyose extrait par moi du *Stachys tuberosa* L.

I. *Point de fusion* — peu net, devient pâteux vers 145°, puis fond vers 170-175°.

2. *Perte de poids par la chaleur.* — 0 g., 5013 maintenus à l'étuve à 110° jusqu'à poids constant ont perdu 0 g., 0498, perte pour 100 : 9,93. (théorie pour 4 OH₂ de cristallisation : 9,75 p. 100).

3. *Pouvoir rotatoire.*

$\alpha = + 6^{\circ}5'$, ($v = 22$ cm³, $l = 2$, $p. = 0$ g., 5036, $t = 21^{\circ}$).

$[\alpha]_D^{21} = + 132^{\circ},87$ pour le produit cristallisé,

$[\alpha]_D^{21} = + 148^{\circ},20$ pour le produit anhydre.

La solution aqueuse n'est pas réductrice.

4. Action de l'invertine.

Traitée par l'invertine, la rotation de la solution obtenue a une valeur égale à la rotation primitive, multipliée par le coefficient 0,689 (*) :

une solution de déviation $\alpha = + 6^{\circ}5' = + 6^{\circ}08$ traitée 48 heures par l'invertine à 33° a une rotation de $\alpha = + 4^{\circ},345$.

Or $+ 6^{\circ},08 \times 0,689 = + 4^{\circ},191$.

De plus la solution devient fortement réductrice.

5. Production d'acide mucique.

Oxydé par l'acide nitrique de densité 1,15 ce sucre donne naissance à des cristaux d'acide mucique, petits prismes courts ; lavés à l'eau et desséchés à 110°, ils fondent à + 213°, ils sont entièrement solubles dans l'ammoniaque.

En résumé :

Caractères du stachyose cristallisé à 4 molécules d'eau.

Verveines hybrides.

Les innombrables variétés de Verveines hybrides dérivent des espèces suivantes :

Verbena chamoedrifolia JUSS.

— *teucრიoides* GILL. et HOOK.

— *incisa* HOOK.

— *melindres* GILL.

— *phlogiflora* CHAM.

chaque fois que l'on sème des graines recueillies sur des variétés horticoles cultivées, en mélange ou isolées, on en obtient de nouvelles [105].

Leur origine botanique étant trop incertaine, je ne les ai pas étudiées au point de vue biochimique.

(*) V. p. : 166 pour le coefficient hydrolytique du stachyose par rapport à l'invertine.

INTERPRÉTATION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS

Holoside dédoublable par l'invertine.

Les espèces de Verveines étudiées, classées selon l'indice croissant de l'holoside donnent le tableau suivant :

Espèce traitée	Indice	Mois de récolte
<i>V. pulchella</i>	598	Août
<i>V. erinoïdes</i>	601	Août
<i>V. hispida</i>	662	Septembre
<i>V. tenera</i>	667	Juin
<i>V. bonariensis</i>	673	Septembre
<i>V. venosa</i>	678	Octobre
<i>V. prostrata</i>	768	Juillet
<i>V. urticæfolia</i>	836	Août
<i>V. Aubletia</i>	915	Août
<i>V. littoralis</i>	1860	Juillet
<i>V. canadensis</i>	2481	Août
<i>V. stricta</i>	3061	Août
<i>V. teucrioides</i>	3108	Juillet
<i>V. supina</i>	3930	Août
<i>V. hastata</i>	21840	Juillet

D'après ce tableau, on peut diviser ces plantes en deux groupes, dans le premier, l'indice va de **598** à **915**, dans le second de **1860** à **21840**.

Parmi les Verveines du premier groupe, j'ai décelé le stachyose (indice **548**) dans les *V. bonariensis*, *hispida* et *venosa* et j'ai pu l'extraire à l'état cristallisé de cette dernière. D'autre part les essais mensuels sur la Verveine officinale (*) montrent que le stachyose existe toute l'année dans les parties souterraines avec un minimum en juin, juillet et août et fait défaut dans les parties aériennes durant ces mêmes mois.

Or les *Verbena bonariensis* et *hispida* ont été récoltées en septembre et *V. venosa* en octobre, l'extraction à partir du *V. officinalis* a eu lieu en novembre donc tous pendant

(*) V. p. : 216 et p. : 218.

l'automne, époque où le stachyose s'accumule dans les organes de réserve de ces plantes.

Tous les autres essais ont été effectués durant l'été ; il est probable que des expériences faites en automne sur ces mêmes plantes auraient permis de retrouver ce sucre chez plusieurs d'entre elles.

Les six espèces du deuxième groupe contiennent un holoside à gros indice, toutes ont été traitées en juillet et août. D'autre part dans les parties aériennes du *Verbena officinalis* nous trouvons aussi un holoside, à indice élevé durant l'été : juin (2694), juillet (3564), août (2082), septembre (2487).

Cet holoside se caractérise par un recul très faible (2 à 4 minutes) pour une augmentation très nette du sucre réducteur sous l'action de l'invertine, or une erreur de deux minutes est facile au polarimètre et peut entraîner dans le cas présent une différence du simple au double de l'indice. Il faut donc tenir compte uniquement de la grandeur de l'indice sans s'arrêter aux différences. Il s'agit probablement du même sucre, seule l'extraction de ce corps permettrait de l'affirmer.

En dehors de l'été, dans la Verveine officinale et dans les autres espèces, l'indice reste aux environs de 600 à 700, indices peu éloignés de ceux du saccharose (603) et du stachyose (548).

Hétéroside dédoublable par l'émulsine.

Le classement des Verveines étudiées selon l'indice croissant de l'hétéroside donne le tableau suivant :

<i>Verbena</i>	<i>hastata</i>	0
»	<i>stricta</i>	7
»	<i>teucrioides</i>	18
»	<i>littoralis</i>	18
»	<i>supina</i>	34
»	<i>prostrata</i>	37

»	urticæfolia	93
»	canadensis	174
»	hispida	238
»	bonariensis	258
»	erinoïdes	370
»	tenera	444
»	pulchella	565
»	venosa	678
»	Aubletia	1282

Dans un premier groupe de six Verveines, l'indice va de 0 à 37, c'est celui d'un hétéroside à indice très faible, donc réducteur lui-même, ce corps pouvant être le verbénalosite, mais seule une extraction permettrait de le vérifier. Malheureusement ces Verveines sont rares dans nos pays et je n'ai pu me procurer la matière première nécessaire à cet isolement.

Il est curieux de constater qu'exception faite du *Verbena prostrata*, les Verbenacées paraissant contenir du verbénalosite sont également celles qui possèdent l'holosite à indice élevé signalé plus haut.

Dans le deuxième groupe, l'indice est beaucoup trop élevé pour qu'il s'agisse du verbénalosite, toutefois ce dernier peut s'y trouver mélangé à d'autres hétérosides à indices plus grands; dans ce cas l'essai biochimique ne peut permettre de le déceler.

La teneur en hétéroside n'est pas très grande. Le retour de la déviation par l'émulsine évolue entre 3°43' et 1°22'

Verbena	stricta	3° 43'	
»	»	prostata	2° 4'
»	»	supina	1° 48'
»	»	urticæfolia	1° 46'
»	»	hastata	1° 42'
»	»	teucroiōides	1° 40'
»	»	canadensis	1° 26'
»	»	littoralis	1° 22'

pour toutes les autres, il est inférieur à 50 minutes. Le sucre réducteur formé par l'émulsine est au maximum de 0 g., 2840 pour le *V. erinoïdes*, si on admet que le sucre représente environ 50 p. 100 de la molécule de l'hétéroside cela ferait environ 6 g. au kg de matière fraîche ; pour les autres Verveines ce chiffre est plus faible.

Une fois l'action de l'émulsine terminée, la poudre fermentaire de chaque plante et la géosidase n'agissent plus.

CONCLUSIONS. — Ces essais ont porté sur quinze Verveines exotiques.

Dans les *Verbena bonariensis*, *hispida* et *venosa*, j'ai décelé la présence du stachyose, cet holoside a été extrait à l'état cristallisé des parties souterraines du *Verbena venosa*.

Un holoside à indice très élevé, déjà signalé dans les parties aériennes de la Verveine officinale se retrouve dans six espèces de Verveines.

Toutes contiennent un ou plusieurs hétérosides.

Dans six Verveines (*V. hastata*, *stricta*, *teucrioïdes*, *littoralis*, *supina*, *prostrata*) il existe un hétéroside réducteur dédoublable par l'émulsine, vraisemblablement du verbénaloside.

Cette présence est également probable dans le *V. urticæfolia*, mais il serait alors mélangé à d'autres hétérosides à indice plus élevé.

Du nitrate de potassium a été extrait des parties aériennes du *V. bonariensis*.

CHAPITRE IV

Recherche du Verbénaloside dans les autres genres de la famille des Verbénacées

GENRE :	PARTIE TRAITÉE :
Baillonia :	
<i>B. spicata</i> H. Bk.	— jeunes rameaux.
Callicarpa :	
<i>C. aff. Americana</i> L.	— tiges avec feuilles.
<i>C. Giraldiara</i> HESSE	— jeunes rameaux avec feuilles et baies.
Caryopteris :	
<i>C. glutinosa</i> REHDER.	— jeunes rameaux avec feuilles et fleurs.
<i>C. Mastacanthus</i> SCHAN.	— jeunes rameaux avec feuilles et fleurs.
Citharexylum :	
<i>C. barbinerve</i> CHAM.	— tiges avec feuilles et épines.
Clerodendron :	
<i>C. Fargesii</i> DODE.	— tiges avec feuilles.
<i>C. fœtidum</i> BGE.	— tiges avec feuilles.
<i>C. trichotomum</i> THUNB.	— tiges avec feuilles.
Duranta :	
<i>D. Plumieri</i> JACQ.	— fruits secs. — tiges avec feuilles
Lantana :	
<i>L. Camara</i> L.	— tiges avec feuilles, fleurs et fruits.
<i>L. ramosa</i>	— fruits secs.
<i>L. Selloviana</i> LINK et OTTO	— tiges avec feuilles et fleurs.

Lippia :

L. chamædrifolia STEND. — rameaux avec feuilles et inflorescences.

L. citriodora H. B. et K. — rameaux avec feuilles et inflorescences.

L. repens SPRENG. — plante entière.

Vitex :

V. Agnus castus L. — jeunes rameaux avec feuilles et inflorescences.

V. Negundo L, var. *incisa*
C. B. CLARK. — tiges avec feuilles et inflorescences.

*

**

Cette étude porte sur dix huit espèces de Verbénacées se rattachant à neuf genres autres que le genre *Verbena*, sur les dix neuf essais réunis, trois m'ont été fournis par M. H. HÉRISSEY, un sur le *Baillonia spicata*, extrait d'un travail personnel, deux sur les fruits de *Duranta Plumieri* et de *Lantana ramosa* tirés d'un cahier du laboratoire d'EM. BOURQUELOT.

Les plantes utilisées dans ces recherches proviennent du Museum d'Histoire Naturelle, de l'arboretum de Chèvreloup ou de la Villa Thuret (*)

(*) Ces dernières m'ont été adressées du Cap d'Antibes par le regretté G. POIRAULT, directeur de cette station, je m'incline respectueusement devant sa mémoire.

Baillonia spicata. H. Bn

Extrait de : « HERISSEY H. — Sur la présence d'un glucoside dédoublable par l'émulsine dans le *Baillonia spicata* H. Bn. et sur les produits de dédoublement de ce glucoside. »

Bull. Soc. Chim. biol., 1925, 7, 194-201.

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — novembre-décembre 1921.

Partie traitée : jeunes rameaux.

Déviatiou l=2.

initiale	— 8° 6'
après invertine	— 9° 54'
après émulsine	+ 1° 10'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,4358
après invertine	1g.,3814
après émulsine	4g.,0692

Par invertine :

recul	1° 48'
sucre formé	0g.,9546
INDICE	525

Par émulsine :

retour	11° 4'
sucre formé	2g.,6874
INDICE	242 (*)

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 4358.

2. — Saccharose : 0 g., 9068 (indice : 525).

L'action de l'émulsine se faisant constamment vers la droite :

au départ	— 9° 54'
1 ^{er} jour	— 6° 18'
2 ^e jour	— 3° 42'

(*) Une faute d'impression a fait mettre dans le mémoire original 234 au lieu de 242.

7 ^e jour	— 1°48'
128 ^e jour	+ 1°10'

on peut en conclure à l'absence de stachyose ou de raffinose.

3. — L'hétéroside hydrolysé par l'émulsine existe en quantité assez considérable (sucre apparu : 2 g., 6874 p. 100 cm³).

Les caractères optiques et réducteurs de ce corps permettent d'affirmer qu'il ne s'agit pas du verbénaloside.

L'hétéroside n'a pas été isolé par H. HERISSEY mais il a obtenu deux des produits de dédoublement par l'émulsine :

d'une part du glucose-*d*,

d'autre part un corps cristallisant anhydre (point de fusion 185-186°, $[\alpha]_D = -36^\circ, 37^\circ$), à fonction lactone appelé *baillonigénol*. Il a appelé le glucoside à extraire : *baillonioside*.

Callicarpa aff. Americana L

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — Août 1935.

Partie traitée : tiges avec feuilles.

Matière sèche p. 100 : 38.

Déviatiou l=2.

initiale	+ 33'
après invertine	— 2'
après émulsine 7 jours après.....	+ 6'
32 » »	— 4'
60 » »	— 4'

Sucre reducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	0g.,3313
après invertine	0g.,8104
après émulsine 7 jours après.....	0g.,9935
32 » »	1g.,1092
60 » »	1g.,1092

Par invertine :

recul	31'
sucre formé	0g.,4791
INDICE	927

Par émulsine :

recul	?
sucre formé	0g.,2988
INDICE	?

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Callicarpa* et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 3313.
2. — Sucres réducteurs formés par l'invertine : 0 g., 4791, non constitués par du saccharose (indice : 927).
3. — Par l'émulsine la rotation qui est au départ $\alpha = - 2'$
 est 7 jours après = - 6'
 puis 32 jours après = - 4'
 et 60 jours après = - 4'

par contre le pouvoir réducteur augmente 0g.,9935 au 7^e jour

1g.,1092 au 32^e jour

1g.,1092 au 60^e jour

Phénomène différent du cas du stachyose ; ici la déviation passe à gauche du zéro. Pour admettre la présence de ce sucre, il faudrait supposer qu'il existe en même temps une substance lévogyre imposant son sens gauche à l'ensemble.

4. — Pas de verbénalosite.

Callicarpa Giralddiana HESSE, Chine.

Origine : Arboretum de Chévreloup. — Octobre 1935.

Partie traitée : jeunes rameaux avec feuilles et baies.

Matière sèche p. 100 : 45.

Déviatiou 1=2.

initiale	+ 1° 54'
après invertine	+ 46'
après émulsine 3 ^e jour.....	+ 1° 19'
31 ^e »	+ 53'
56 ^e »	+ 44'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	0g.,6563
après invertine	1g.,3296
après émulsine 3 ^e jour.....	1g.,5083
31 ^e »	1g.,6280
56 ^e »	1g.,7692

Par invertine :

recul	1° 8'
sucre formé	0g.,6733
INDICE	594

Par émulsine :

au 3^e jour :

retour	33'
sucre formé	0g.,1787
INDICE	324

au 56^e jour :

recul	35'
sucre formé	0g.,4396

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Callicarpa Giralddiana* et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 6563.

2. — Holoside dédoublé par l'invertine d'indice 594, voisin

de celui du saccharose (indice : 603), mais la rotation restant droite après l'action de l'invertine, il ne s'agit pas de ce sucre.

L'action de l'émulsine va nous éclairer sur la nature de ce corps.

3. — Par l'émulsine, la rotation qui est

au départ	$\alpha = +$	46'
est 3 jours après	$= +$	1° 19'
puis 31 jours après	$= +$	53'
et 56 jours après	$= +$	44'

par contre le pouvoir réducteur augmente: 1g.,5083 au 3^e jour
 1g.,6280 au 31^e jour
 1g.,7692 au 56^e jour.

Il y a donc deux phénomènes successifs, d'abord dédoublement d'un hétéroside (indice : 324) qui entraîne la déviation vers la droite, puis l'hydrolyse d'un holoside qui fait reculer la déviation. Etant donné ce que nous avons déjà vu (*), on peut admettre qu'ici aussi il s'agit du dédoublement du stachyose.

4. — Pas de verbénaloside.

(*) V. p. : 154 et p. : 156.

Caryopteris glutinosa REHDER. Chine.

Origine : Arboretum de Chèvreloup. — Octobre 1935.

Partie traitée : jeunes rameaux avec feuilles et fleurs.

Matière sèche p. 100 : 31.

Déviatiou 1=2.

initiale	+ 1°32'
après invertine	— 21'
après émulsine 3 ^e jour.....	— 10'
32 ^e »	— 57'
54 ^e »	— 1° 8'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,9350
après invertine	2g.,3293
après émulsine 3 ^e jour.....	2g.,5181
32 ^e »	2g.,9466
54 ^e »	3g.,1262

Par invertine :

recul	1°53'
sucré formé	1g.,3943
INDICE	740

Par émulsine :

au 3^e jour :

retour	11'
sucré formé	0g.,1888
INDICE	1029

au 54^e jour :

recul	58'
sucré formé	0g.,7969

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Caryopteris glutinosa* et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 9350.

2. — Par l'invertine dédoublement d'un holoside d'indice

740, assez éloigné de celui du saccharose, si l'on admet la présence de ce sucre, il y en a : 1 g., 3245.

3. — Par l'émulsine, deux phénomènes superposés, la rotation gagne d'abord vers la droite puis revient vers la gauche

- 21' au départ
- 10' au 3^e jour
- 57' au 32^e jour
- 1°8' au 54^e jour

par contre, la quantité de sucres réducteurs augmente régulièrement

- 2g.,3293 au départ
- 2g.,5181 au 3^e jour
- 2g.,9466 au 32^e jour
- 3g.,1262 au 54^e jour.

Il y a donc dédoublement d'un hétéroside, (indice : 1029) puis hydrolyse d'un corps donnant des produits lévogyres. On ne peut penser ici à la présence de stachyose ou bien il faudrait admettre la présence d'une substance très lévogyre préexistante et imposant le sens de la déviation.

4. — Pas de verbénaloside.

Caryopteris Mastacanthus SCHAN. Chine.

Origine : Arboretum de Chèvreloup. — Octobre 1935.

Partie traitée : jeunes rameaux avec feuilles et fleurs.

Matière sèche p. 100 : 30.

Déviatiun 1=2.

initiale	— 2° 56'
après invertine	— 5° 1'
après émulsine 3 ^e jour.....	— 4° 34'
32 ^e »	— 5° 10'
54 ^e »	— 5° 10'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	1g.,0340
après invertine	2g.,4173
après émulsine 3 ^e jour.....	2g.,5317
32 ^e »	2g.,8454
54 ^e »	2g.,9216

Par invertine :

recul	2° 5'
sucré formé	1g.,3833
INDICE	663

Par émulsine :

au 3^e jour :

retour	27'
sucré formé	0g.,1144
INDICE	254

au 54^e jour :

recul	36'
sucré formé	0g.,5043

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Caryopteris Mastacanthus* et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 1 g., 0340.
2. — Par l'invertine, il y a dédoublement d'un holoside

d'indice : **663** assez voisin de celui du saccharose. Dans le cas de ce sucre, il y en aurait : 1 g., 3141.

3. — Par l'émulsine, il y a ici deux phénomènes superposés ; tout d'abord la rotation va vers la droite, puis revient vers la gauche :

- 5° 1' au départ,
- 4° 34' au 3^e jour,
- 5° 10' au 32^e jour,
- 5° 10' au 54^e jour,

tandis que les sucres réducteurs augmentent régulièrement :

- 2g.,4173 au départ,
- 2g.,5317 au 3^e jour,
- 2g.,8454 au 32^e jour,
- 2g.,9216 au 54^e jour.

Il y a donc d'abord hydrolyse d'un hétéroside, (indice : **254**) puis dédoublement a un corps donnant des produits lévogyres. Pour admettre ici la présence du stachyose, il faut supposer en même temps l'existence d'une substance très lévogyre, qui impose dès le début le sens gauche de la déviation.

4. — Pas de verbénalosite.

Citharexylum barbinerve CHAM.

Origine : Villa Thuret. Cap d'Antibes. — Août 1935.

Partie traitée : tiges avec feuilles et épines.

Matière sèche p. 100 : 36.

Déviatiou l=2.

initiale	— 57'
après invertine	— 2°29'
après émulsine	± 0

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,4422
après invertine	1g.,4370
après émulsine	2g.,1657

Par invertine :

recul	1°32'
sucre formé	0g.,9948
INDICE	659

Par émulsine :

retour	2°29'
sucre formé	0g.,7287
INDICE	293

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Citharexylum barbinerve* et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Présence de 0 g., 4422 de sucre réducteur initial.

2. — Présence de 0 g., 9450 de saccharose (indice trouvé : 659).

3. — Par l'émulsine, le liquide prend une couleur rouge sang surtout visible après dilution du liquide; le liquide déféqué reste légèrement rosé.

Ce ferment décèle la présence d'un hétéroside, d'indice : 293, (quantité importante), si l'on admet que le sucre représente 50 p. 100 de la molécule, il y en aurait environ 15 g. au kg. de plante fraîche.

4. — ras de verbénaloside.

Clerodendron Fargesii DODE. Chine.

Origine : Arboretum de Chèvreloup. — Octobre 1935.

Partie traitée : jeunes rameaux feuillus.

Matière sèche p. 100 : 25.

Déviatiou 1=2.

initiale	+ 2°12'
après invertine	+ 59'
après émulsine	+ 59'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,4752
après invertine	1g.,2249
après émulsine	1g.,5360

Par invertine :

recul	1°13'
sucre formé	0g.,7497
INDICE	616

Par émulsine :

retour	0
sucre formé	0g.,3111
INDICE	?

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Clerodendron Fargesii* DODE et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 4752.

2. — Sucre dédoublable par l'invertine : 0 g., 7497 probablement du saccharose (indice **616**) soit : 0 g., 7122 de cet holoside.

3. — Par l'émulsine la rotation ne change pas, par contre il apparaît 0 g., 3111 de sucre réducteur. Sans étude plus approfondie, il est difficile de donner une interprétation à ce fait.

4. — Pas de verbénalosite.

Clerodendron foetidum Bge. Chine.

Origine : Arboretum de Chèvreloup. — Octobre 1935.

Partie traitée : jeunes rameaux feuillus.

Matière sèche p. 100 : 30.

Déviatiou l=2.

initiale	+ 1°57'
après invertine	+ 37'
après émulsine	+ 1° 4'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	0g.,3080
après invertine	1g.,1687
après émulsine	1g.,5360

Par invertine :

recul	1°20'
sucre forme	0g.,8607
INDICE	645

Par émulsine :

retour	27'
sucre formé	0g.,3673
INDICE	816

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Clerodendron foetidum* BGE et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 3080.
2. — Un sucre dédoublable par l'invertine d'indice 645, probablement du saccharose dont la quantité serait de 0 g., 8176.
3. — Un hétéroside dédoublable par l'émulsine d'indice 816 en quantité assez faible.
4. — Pas de verbénaloside.

Clerodendron trichotomum THUNB. Japon

Origine : Arboretum de Chèvreloup. — Octobre 1935.

Partie traitée : tiges avec feuilles.

Matière sèche p. 100 : 20.

Déviatiun l=2.

initiale	+ 1°28'
après invertine	+ 35
après émulsine	+ 55'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,3110
après invertine	0g.,7455
après émulsine	1g.,0560

Par invertine :

recul	53'
sucre formé	0g.,4345
INDICE	491

Par émulsine :

retour	20'
sucre formé	0g.,3105
INDICE	931

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Clerodendron trichotomum* THUNB. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 3110.
2. — Sucre dédoublable par l'invertine : 0 g., 4343, l'indice est de 491, trop éloigné de celui du saccharose pour admettre l'existence seule de ce sucre.
3. — Par l'émulsine, présence d'un hétéroside d'indice 931 en quantité assez faible.
4. — Pas de verbénaloside.

Duranta Plumieri JACQ. Amérique tropicale.

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — Août 1935.

Partie traitée : tiges avec feuilles.

Matière sèche p. 100 : 44.

Déviatiion $l=2$.

initiale	— 46'
après invertine	— 3°40'
après émulsine	— 1°45'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	1g.,0256
après invertine	2g.,8520
après émulsine	3g.,6269

Par invertine :

recul	2°54'
sucré formé	1g.,8264
INDICE	629

Par émulsine :

retour	1°45'
sucré formé	0g.,6108
INDICE	318

Après l'invertine et l'émulsine, la géosidase et la poudre fermentaire de *Duranta Plumieri* JACQ. n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 1 g., 0256.
2. — Saccharose : 1 g., 7350 (indice : 629).
3. — Présence d'un hétéroside dédoublable par l'émulsine (indice 318, en quantité pouvant permettre l'extraction, 12g. environ par kg. de plante fraîche si l'on admet que le sucre constitue 50 p. 100 de la molécule (0 g., 6108 de sucre réducteur formé p. 100 cm³).

La liqueur traitée par l'émulsine est devenue noire. Le liquide déféqué est jaune safran. La liqueur cupro-alcaline après réduction prend une teinte vert-clair.

Un tube scellé contenant $\left\{ \begin{array}{l} \text{SO}_4\text{H}_2 \text{ au } 1/10^\circ \dots \\ \text{OH}_2 \text{ dist.} \dots\dots\dots \\ \text{sol. témoin} \dots\dots \end{array} \right\}$ ââ 3 cm3

maintenu au bain-marie bouillant pendant 2 heures contient un précipité noir assez abondant.

4. — Pas de verbénaloside.

Duranta Plumieri JACQ. Amérique tropicale.

Extrait d'un cahier du laboratoire d'EM. BOURQUELOT, transmis par M. H. HERISSEY, non publié.

Partie utilisée : fruits secs.

Déviatiun l=2.

initiale	— 2° 15'
après invertine	— 2° 25'
après émulsine	— 1° 45'

Sucre reducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	1g.,086
après invertine	1g.,126
après émulsine	1g.,623

Par invertine :

recul	10'
sucre formé	0g.,040
INDICE	240

Par émulsine :

retour	40'
sucre formé	0g.,497
INDICE	745

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 1 g., 086.
2. — Le sucre réducteur formé par l'invertine en petite quantité (0g.,040 p. 100 cm³) n'est pas du saccharose (indice : 240).
3. — Les fruits contiennent un hétéroside dédoublable par l'émulsine (sucre réducteur formé : 0 gr. 497 p. 100 cm³, indice : 745) différent de celui trouvé dans les parties aériennes (indice : 318).
4. — Pas de verbénalosite.

Lantana Camara L. Amérique tropicale.

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — Août 1935.

Partie traitée : tiges avec feuilles, fleurs et fruits.

Matière sèche p. 100 : 43.

Déviatiou 1=2.

initiale	+ 1°34'
après invertine	— 19'
après émulsine	+ 42'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,5095
après invertine	1g.,5716
après émulsine	2g.,0187

Par invertine :

recul	1°53'
sucré formé	1g.,0621
INDICE	564

Par émulsine :

retour	1° 1'
sucré formé	0g.,4471
INDICE	439

Après l'invertine et l'émulsine, la géosidase et la poudre fermentaire de *Lantana Camara* L. n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0g.,5095.

2. — Saccharose : 1g.,0089 (indice : 564).

3. — Par action de l'émulsine la liqueur et la mousse, obtenue par agitation du liquide, prennent une couleur noire très foncée.

L'hétéroside donnant par hydrolyse une substance mélanique est en quantité peu abondante (sucre réducteur formé : 0g.,4471 p. 100 cm³).

Un tube scellé contenant $\left. \begin{array}{l} \text{SO}_3\text{H}_2 \text{ au } 1/10 \\ \text{OH}_2 \text{ dist.} \\ \text{Sol. témoin} \end{array} \right\} \text{ââ } 3 \text{ cm}^3.$

maintenu pendant 2 heures au bain-marie bouillant contient un précipité noir abondant.

4. — Pas de verbénaloside.

Lantana ramosa

Extrait d'un cahier du laboratoire d'EM. BOURQUELOT, transmis par M. H. HERISSEY, non publié.

Partie utilisée : fruits secs.

Déviatiou l=2.

initiale	— 22'
après invertine	— 52'
après émulsine	— 41'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	1g.,875
après invertine	?
après émulsine	?

Par invertine :

recul	30'
sucre formé	?
INDICE	?

Par émulsine :

retour	11'
sucre formé	?
INDICE	?

Lantana Selloviana LINK et OTTO. Amérique australe.

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — Août 1935 .

Partie traitée : tiges avec feuilles et fleurs.

Matière sèche p. 100 : 42.

Déviatiou l=2.

initiale	- - 43'
après invertine	— 1°17'
après émulsine	— 33'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,4303
après invertine	1g.,0626
après émulsine	1g.,3173

Par invertine :

recul	34'
sucre formé	0g.,6323
INDICE	1115

Par émulsine :

retour	44'
sucre formé	0g.,2547
INDICE	347

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Lantana Selloviana* et la géosidase n'ont pas d'action.

La solution colore la liqueur cupro-potassique en vert clair à froid et en vert noir à chaud.

Interprétation des résultats

1. — Présence de 0 g., 4303 de sucre réducteur initial.
2. — Présence de 0 g., 6323 de sucre hydrolysable par l'invertine (indice : 1115).
3. — Présence d'un hétéroside dédoublable par l'émulsine (indice : 347).
4. — Pas de verbénalosite.

Lippia chamaedrifolia STEND.

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — Novembre 1935 ,
Partie traitée : rameaux avec feuilles et inflorescences portant fleurs et fruits.

Matière sèche p. 100 : 44.

Déviatiou 1 = 2.

initiale	— 1° 17'
après invertine	— 26'
après émulsine	— 33'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,2296
après invertine	1g.,1800
après émulsine	1g.,5360

Par invertine :

recul	1° 43'
sucre formé	0g.,9504
INDICE	553

Par émulsine :

retour	59'
sucre formé	0g.,3560
INDICE	362

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Lippia chamædrifolia* et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0g.,2296.
2. — Sucre hydrolysable par l'invertine (indice : **553**), correspondant à du saccharose : 0 g., 9028 p. 100 cm³.
3. — Par émulsine, dédoublement d'un hétéroside d'indice **362**.
4. — Pas de verbénaloside.

Lippia citriodora H. B. et K. Amérique australe

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — Octobre 1934.

Partie traitée : rameaux avec feuilles et inflorescences.

Matière sèche p. 100 : 36.

Déviatiou 1=2.

initiale	— 7'
après invertine	— 16'
après émulsine	+ 7'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,1381
après invertine	0g.,2932
après émulsine	0g.,6003

Par invertine :

recul	9'
sucre formé	0g.,1551
INDICE	1034

Par émulsine :

retour	23'
sucre formé	0g.,3071
INDICE	801

Après l'invertine et l'émulsine, la géosidase et la poudre fermentaire de *Lippia citriodora* n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats

1. — Présence de 0 g., 1381 de sucres réducteurs initiaux.
2. — L'holoside dédoublé par l'invertine n'est pas du saccharose, son indice est de **1034**.
3. — Par l'émulsine, il apparaît progressivement une coloration violette puis noire due à l'hydrolyse d'un hétéroside, la mousse obtenue par agitation a la même couleur. Le témoin reste peu coloré et la mousse est blanche. Si l'on admet pour la molécule de ce corps 50 p. 100 de glucose, il y en aurait environ 6 g. au kg. de rameaux frais, ce qui pourrait en permettre l'extraction.
4. — Pas de verbénaloside.

Action de l'acide sulfurique. — Sur la solution témoin, j'ai fait l'essai suivant :

sol. témoin	3 cm ³
eau distillée	3 cm ³
SO ₄ H ₂ au 1/10 ^e	3 cm ³

le tout est mis dans un tube scellé au bain-marie bouillant pendant 2 heures, il apparaît dans le tube un précipité noir, mais celui-ci est peu abondant, beaucoup moins que celui obtenu par M. H. HÉRISSEY en opérant dans les mêmes conditions pour la recherche de l'aspéruloside et de l'aucuboside. [60, 65].

La culture du *Lippia citriodora* se fait dans le midi de la France, mais surtout, en grand, dans l'Afrique du nord.

La dessiccation opérée sans soins entraîne un noircissement des feuilles ce qui diminue la valeur marchande de la drogue. Afin d'éviter cet inconvénient, il est nécessaire de récolter les tiges feuillées avec précaution et de les faire sécher *très rapidement* au soleil.

L'essai précédent montre qu'il s'agit d'un phénomène diastatique, dédoublement d'un hétéroside par l'émulsine, cette hydrolyse entraîne la formation d'un produit noir en quantité d'autant plus grande que la dessiccation est plus lente.

ESSAI D'EXTRACTION A PARTIR DES TIGES FEUILLUES DE LIPPIA CITRIODORA

2.000 g. de tiges feuillées de Verveine odorante cueillies à Boufarik le 10 septembre 1935 à 18 heures sont transportées par avion à Paris, elles y arrivent le 11 septembre à 17 heures et sont stabilisées avant 22 heures. Elles sont en parfait état sans trace de coloration noire.

L'extrait est préparé comme d'habitude et épuisé par l'ester acétique. Les trois premières reprises ont un pouvoir rotatoire gauche mais ne cristallisent pas, même après concentration. L'acétate d'éthyle est distillé à sec. Dans l'extrait apparaissent de très fins cristaux en aiguilles dispersés dans la masse.

L'extrait est dissous dans 50 cm³ d'eau, la solution défé-

quée au sous-acétate de plomb et l'excès de plomb éliminé.

Rapportés au liquide non déféqué on trouve les chiffres suivants :

$$\alpha = - 6^{\circ}$$

matières réductrices exprimées en glucose :

$$0 \text{ g.,}6252 \text{ p. } 100 \text{ cm}^3.$$

Additionné d'émulsine le liquide donnait :

8 jours après :

$$\alpha = - 3^{\circ}57'$$

matières réductrices : 1 g.,4039 p. 100 cm³.

18 jours après :

$$\alpha = - 3^{\circ}48'$$

matières réductrices : 1 g.,5540 p. 100 cm³.

Dans l'extrait épuisé par l'ester acétique, un traitement par l'alcool fort donne des solutions dans lesquelles se déposent des cristaux cubiques et des cristaux en aiguilles. Les premiers étant plus solubles à chaud que les seconds, on peut arriver à les séparer.

Diagnose des cristaux cubiques. — Cristaux solubles dans l'eau la solution évaporée à l'étuve à 30° cristallise en trémies.

La solution précipite par le nitrate d'argent en solution nitrique; le précipité d'halogénure argentique mis en suspension dans l'eau est réduit par l'hydrogène naissant. La solution filtrée traitée par l'acide sulfurique et le permanganate de potassium à l'ébullition émet un dégagement de chlore colorant en violet le réactif de VILLIERS.

La solution donne des précipités cristallins avec l'acide perchlorique et l'acide borique.

Il s'agit de *chlorure de potassium*.

Diagnose des cristaux en aiguilles.

Grandes aiguilles prismatiques recristallisées dans l'al-

cool à 80 °, saveur fraîche, très légèrement piquante, chauffées, elles déflagrent légèrement.

La solution sulfurique de sulfate de diphénylamine donne une coloration bleue immédiate.

Le réactif hydrostrychnique de DENIGÈS ne donne une coloration rouge-sang qu'après addition d'acide sulfurique pur.

La solution en milieu sulfurique additionnée de grenaille de zinc puis de lessive de soude donne un dégagement net d'ammoniaque.

La flamme a une coloration lilas.

Ces réactions permettent de conclure à la présence de *nitrate de potassium*.

Les essais précédents ont permis de caractériser du chlorure et du nitrate de potassium dans les extraits de tiges feuillues de Verveine odorante. Un hétéroside en quantité notable a été obtenu dans un extrait éthéro-acétique, il semble y cristalliser en aiguilles très fines. De nouvelles recherches seront nécessaires pour l'isoler.

Lippia repens SPRENG = Lippia nodiflora RICH.

Europe méridionale, Asie, Afrique, Amérique.

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — Octobre 1934.

Partie traitée : plante entière avec fleurs et fruits.

10 pieds pèsent 80 grammes.

Matière sèche p. 100 : 28.

Déviatiou 1=2.

initiale	+ 1°31'
après invertine	+ 54'
après émulsine	+ 29'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,2440
après invertine	0g.,6118
après émulsine	0g.,9160

Par invertine :

recul	37'
sucre formé	0g.,3678
INDICE	596

Par émulsine :

recul	?
sucre formé	0g.,3052
INDICE	?

Après l'invertine et l'émulsine, la géosidase et la poudre fermentaire de *Lippia repens* n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Présence de 0 g., 2440 de sucres réducteurs initiaux.
2. — Présence de 0g.,3494 de saccharose: (indice du saccharose : 603, indice trouvé : 596).
3. — L'action de l'émulsine se terminant par un retour vers la gauche, j'ai recommencé un essai à partir de la solution témoin en suivant d'une façon plus détaillée l'action de ce ferment.

	Déviatiôn	sucre formé
Au départ $\alpha =$	+ 54'	0g.,6118
3 jours après.	= + 1° 8'	0g.,7440
8 » »	= + 1° 4'	0g.,8330
12 » »	= + 42'	0g.,9160
30 » »	= + 29'	0g.,9160
35 » »	= + 29'	0g.,9160

L'action de ce ferment dans le cas présent est complexe, il y a certainement un hétéroside dédoublé, puisque la rotation passe dans les 3 premiers jours, de + 54' à + 1° 8', puis cette déviation revient vers la gauche alors que le pouvoir réducteur continue à augmenter; il s'agit probablement d'une hydrolyse d'holoside non touché par l'invertine, ou touché seulement partiellement, par ce ferment (*), qui vient se superposer à l'hydrolyse de l'hétéroside; étant donné ce que nous avons déjà vu dans d'autres Verbénacées, il est probable qu'il s'agit du stachyose.

4. — Le *Lippia repens* ne renferme pas de verbénaloside, les caractères optiques et réducteurs ne correspondent pas à cet hétéroside, de plus la liqueur cupro-alcaline ne se colore pas en noir comme avec ce corps.

Il contient un hétéroside d'indice 594, sucre apparu 0 g., 1322 pour un retour de douze minutes.

(*) L'invertine n'hydrolyse qu'en partie certains holosides complexes (stachyose, raffinose, gentianose etc..), c'est l'émulsine qui achève de scinder ces glucides en leurs oses constituants.

V. le même fait p. : 154, p. : 156.

Vitex Agnus castus L.

France méridionale, Orient Littoral méditerranéen.

Origine : Muséum d'Histoire Naturelle. — Septembre 1935.

Partie traitée : jeunes rameaux avec feuilles et inflorescences.

Matière sèche p. 100 : 25.

Déviatiou l=2.

initiale	— 1°52'
après invertine	— 3°16'
après émulsine	— 2'
après poudre fermentaire	+ 3'
après géosidase	+ 46'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	0g.,3825
après invertine	1g.,1710
après émulsine	2g.,0583
après poudre fermentaire	2g.,0758
après géosidase	2g.,2387

Par invertine :

recul	1°24'
sucre formé	0g.,7885
INDICE	563

Par émulsine :

retour	3°14'
sucre formé	0g.,8873
INDICE	274

	Par poudre fermentaire, Vitex	Par géosidase
retour	5'	48'
sucre formé	0g.,0175	0g.,1804
INDICE	210	225

Interprétation des résultats.

1. — *Oses et holosides.*

Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 3825.

Saccharose (indice : 563) : 0 g., 7490.

2. — *Hétérosides.*

a/ — Par l'émulsine, la liqueur prend une coloration noire. Sucre formé 0 g., 8873, retour 3°14', indice 274.

b/ — L'action de l'émulsine terminée la poudre fermentaire de *Vitex Agnus castus* et la géosidase s'exercent sur un 2° hétéroside, le 3° de ces complexes fermentaires étant plus actif que le second. Les deux indices trouvés avec ces deux poudres fermentaires 210 et 225 prouvent qu'il s'agit du même corps.

c/ — Une hydrolyse par l'acide sulfurique faite dans les conditions suivantes :

Sol. témoin	} ââ 3 cm3.
Eau dist.	
SO ₄ H ₂ au 1/10°	

le mélange mis en tube scellé et maintenu 2 heures au bain-marie bouillant contient un abondant précipité noir.

d/ — Pas de verbénaloside.

Vitex Negundo L. var. incisa C. B. CLARK. Asie tropicale.

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — Août 1935.

Partie traitée : tiges avec feuilles et inflorescences.

Matière sèche p. 100 : 35.

Déviatiou l=2.

initiale	— 5° 10'
après invertine	— 6° 14'
après émulsine	— 2° 27'
après poudre ferment. <i>Vitex</i>	— 1° 23'
après géosidase	+ 2'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm3.

initial	1g.,0278
après invertine	1g.,8700
après émulsine	2g.,7227
après poudre ferment. <i>Vitex</i>	2g.,9034
après géosidase	3g.,1768

Par invertine :

recul	1° 4'
sucre formé	0g.,8422
INDICE	789

Par émulsine :

retour	3° 47'
sucre formé	0g.,8527
INDICE	225

Par poudre ferment. *Vitex* :

Par géosidase :

	Poud. ferm. <i>Vitex</i>	Géosidase
retour	1° 4'	2° 29'
sucre formé	0g.,1807	0g.,4541
INDICE	169	182

Interprétation des résultats.

1. — *Holosides*.

Sucres réducteurs initiaux : 1 g., 0278.

Sucre par invertine : 0 g., 8422, l'indice **789** est assez éloigné

de celui du saccharose; si on admet la présence de ce sucre il y en aurait : 0 g., 8000.

2. — Hétérosides.

a/ — L'échantillon de *Vitex Negundo* conservé comme témoin dans l'herbier prend rapidement une teinte noire. De même, la plante, hachée pour obtenir la poudre fermentaire, noircit très vite. Ce glucoside à noir est hydrolysé par l'émulsine, la solution traitée par ce ferment devient d'un noir d'encre. — Sucre apparu : 2 g., 7227 p. 100 cm³, indice : 225. Cet hétéroside semble en quantité importante et l'extraction en paraît possible.

b/ — L'action de l'émulsine terminée, la poudre fermentaire de *Vitex Negundo* et la géosidase s'exercent sur un 2^e hétéroside, le 3^e de ces complexes fermentaires étant beaucoup plus actif que le second : (retour : 1°4' et 2°29') mais les deux indices très voisins : 169 et 182 nous montrent qu'il s'agit du déroulement du même corps.

c/ — Une hydrolyse par l'acide sulfurique faite dans les conditions suivantes :

Sol. témoin	} à 3 cm ³ .
Eau dist.	
SO ₄ H ₂ au 1/10 ^e	

le mélange mis en tube scellé et maintenu 2 heures au bain-marie bouillant contient un volumineux précipité noir.

d/ — Pas de verbénaloside.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Holoside. — Si nous classons les plantes essayées selon l'ordre croissant de l'indice enzymolytique obtenu par l'invertine, nous obtenons le tableau suivant :

Clerodendron trichotomum	491
Baillona spicata	525
Lippia chamoedrifolia	553
Vitex Agnus castus	563
Lantana camara	564
Callicarpa Giraldiana	594
Lippia repens	596
Clerodendron Fargesii	616
Duranta Plumieri	629

<i>Clerodendron foetidum</i>	645
<i>Citharexylum barbinerve</i>	659
<i>Caryopteris Masthacantus</i>	663
<i>Caryopteris glutinosa</i>	740
<i>Vitex Negundo</i>	789
<i>Callicarpa Americana</i>	927
<i>Lippia citriodora</i>	1034
<i>Lantana selloviana</i>	1115

L'indice est compris entre 481 et 789 pour 14 plantes, pour trois il est plus élevé: 927, 1034, 1115. Dans les 14 premières, l'indice n'est pas trop éloigné de ceux du stachyose (548) et du saccharose (603).

Dans cinq essais, nous trouvons le phénomène déjà signalé dans certaines Verveines (*), retour de la déviation vers la droite par l'émulsine, puis recul à gauche. Il est probable que la cause perturbatrice est ici due également au stachyose.

Chez les *Callicarpa Giralddiana* et *Lippia repens*, la déviation restant droite, cette hypothèse est acceptable. Pour les *Callicarpa aff. Americana*, *Caryopteris glutinosa*, *Caryopteris Mastacanthus*, la déviation étant gauche, il faut supposer qu'il existe en même temps que le stachyose une substance lévogyre imposant son sens gauche à l'ensemble.

Il est à noter que ces cinq essais ont été effectués l'un en août, quatre en octobre. On sait que c'est en automne que le stachyose s'accumule dans la plante. Il est possible que si les autres essais avaient été effectués à cette époque, ce sucre aurait été trouvé plus fréquemment.

Hétéroside. — Dans aucune des plantes examinées, je n'ai décelé la présence du verbénalosite.

Dans les *Lantana camara*, *Duranta Plumieri*, *Lippia citriodora*, *Vitex Agnus castus* et *Vitex Negundo*, l'émulsine dédouble des hétérosides dont l'aglucone se transforme en substances mélaniques.

Seulement quatre parmi les dix-huit plantes examinées sont relativement riches en hétérosides; retour de la déviation par l'émulsine :

<i>Citharexylum barbinerve</i>	2° 9'
<i>Vitex Agnus castus</i>	3° 14'

(*) V. p. : 154, 156, 231, 237, 249.

<i>Vitex Negundo</i>	3° 47'
<i>Baillonia spicata</i>	11° 4'

Cette dernière plante est particulièrement riche en hétéroside, à noter que le baillonigénol, aglucone extrait du baillonioside par M. H. HÉRISSEY, est un corps à fonction lactone comme le verbénalol [59].

CHAPITRE V

RECHERCHE DU VERBÉNALOSIDE DANS LA FAMILLE DES MYOPORINÉES

RECHERCHE DU VERBÉNALOSIDE DANS LA FAMILLE DES MYOPORINÉES

J'ai continué les recherches entreprises dans les Verbénacées par l'examen de deux *Myoporinées* : *Myoporum tuberculatum* R. Br., *Myoporum deserti* A. CUNN.

Les *Myoporinées* habitent l'Australie, quelques-unes sont utilisées comme plantes ornementales dans les parties chaudes du littoral méditerranéen.

Cette famille botanique est peu connue, elle est très voisine des *Verbénacées* auxquelles la rattachent beaucoup d'auteurs. (*).

(*) On trouvera une étude botanique très complète sur le genre *Myoporum* dans la thèse de Mademoiselle M. Gros [55].

Myoporum tuberculatum R. Br. Australie.

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — Septembre 1935.

Partie traitée : jeunes rameaux avec feuilles.

Matière sèche p. 100 : 22,5.

Déviatiou 1=2.

initiale	— 2°34'
après invertine	— 2°52'
après émulsine	— 39'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,2547
après invertine	0g.,3828
après émulsine	0g.,9625

Par invertine :

recul	18'
sucre formé	0g.,1281
INDICE	404

Par émulsine :

retour	2°13'
sucre formé	0g.,5797
INDICE	261

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Myoporum tuberculatum* R. BR. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 2547.
2. — Sucre dédoublable par l'invertine d'indice 404 : 0 g., 1281.
3. — Un hétéroside dédoublable par l'émulsine d'indice 261 existe en quantité assez considérable; si l'on admet que le sucre réducteur représente 50 p. 100 de la molécule, il y en aurait environ 11 grammes p. 1000 de plante fraîche.
4. — Pas de verbénaloside.

Nota. — La liqueur cupro-alkaline prend après ébullition avec la solution extractive une coloration verte. Le précipité d'oxyde cuivreux est rouge mais reste léger et floconneux, difficile à laver.

Myoporum deserti. A. CUNN. Australie.

Origine : Villa Thuret, Cap d'Antibes. — Septembre 1935.

Partie traitée : jeunes rameaux.

Matière sèche p. 100 : 42.

Déviatiou 1=2.

initiale	— 1° 6'
après invertine	— 1° 6'
après émulsine	+ 15'

Sucre réducteur en glucose p. 100 cm³.

initial	0g.,1972
après invertine	0g.,4389
après émulsine	0g.,9680

Par invertine :

recul	0
sucre formé	0g.,2417
INDICE	?

Par émulsine :

retour	1°21'
sucre formé	0g.,5291
INDICE	391

Après l'invertine et l'émulsine, la poudre fermentaire de *Myoporum deserti* A. CUNN. et la géosidase n'ont pas d'action.

Interprétation des résultats.

1. — Sucres réducteurs initiaux : 0 g., 1972.
2. — Par l'invertine on a le phénomène curieux suivant : apparition de 0 g., 2417 de sucre réducteur sans modification de la rotation. S'agit-il d'un holoside inconnu ?
3. — Par l'émulsine, hydrolyse d'un hétéroside d'indice **391** en quantité assez considérable (sucre apparu : 0 g., 5291, retour : 1°21').
4. — Pas de verbénaloside.

Nota. — La liqueur cupro-alcaline prend après ébullition avec la solution extractive une coloration verte. Le précipité d'oxyde cuivreux est rouge mais reste léger et floconneux, difficile à laver.

(observation déjà signalée à propos du *Myoporum tuberculatum*).

CONCLUSIONS

Les deux Myoporinées étudiées ne semblent pas contenir de verbénaloside.

Elles renferment, par contre, des hétérosides en quantité assez considérable. Si l'on admet que le sucre réducteur représente 50 p. 100 du poids de la molécule de ce corps, il y en aurait environ 10 g. p. 1000 de plante fraîche.

CHAPITRE VI

**RECHERCHE DU VERBÉNALOSIDE
DANS LES ÉCORCES DE RACINES**

DES CORNUS FLORIDA L.

CORNUS MAS L.

CORNUS SANGUINEA L.

I — Recherche du verbénaloside dans les écorces de racines des *Cornus florida* L., *Cornus Mas* L., *Cornus sanguinea* L.

On a vu plus haut [*] que E. R. MILLER [82] avait en 1928 extrait des écorces de racines de *Cornus florida* L. un hétéroside cristallisé pur, que BENNO REICHERT [96] a identifié en 1935 au verbénaloside de L. BOURDIER.

J'ai extrait moi aussi l'hétéroside d'E. R. MILLER de cette écorce et ai constaté l'identité avec le verbénaloside signalée par B. REICHERT (**).

Les deux matières premières actuellement connues pour l'obtention de ce principe sont donc la Verveine officinale en Europe et le *Cornus florida* en Amérique. L'écorce de cet arbre a été inscrite aux pharmacopées des Etats-Unis de 1842 [86], de 1864 et 1873 [87], la pharmacopée de 1880 [88] précise d'employer l'écorce de racines.

Dans l'essai biochimique suivant, j'ai recherché la teneur en verbénaloside de la drogue américaine, afin de pouvoir la comparer avec celle de la drogue européenne (parties aériennes sèches de la Verveine officinale).

Préparation de l'extrait : 300 grammes d'écorce sèche de racines pulvérisées au mortier de fer sont traitées par l'alcool à 65° (***) selon la technique habituellement employée pour la préparation des essais biochimiques. Les liqueurs alcooliques rouge-sang sont concentrées. L'extrait ferme est repris par de l'eau, de telle sorte que 100 cm³. correspondent à 100 g. d'écorce sèche.

(*) V. p. : 18.

(**) V. p. : 18 et 28.

(***) L'emploi d'alcool de titre faible a pour but de compenser l'état de déshydratation de la drogue.

Cornus florida L. Amérique du Nord.

Ecorce de racines (dog-wood bark) : — « morceaux incurvés de taille variable, d'environ un huitième de pouce (3 mm.) d'épaisseur, privés de la couche subéreuse ridée brun-grisâtre; la surface extérieure et intérieure d'un rouge pâle ou légèrement brun-rouge, striée; cassures transversales et longitudinales courtes, blanchâtres avec des stries brunes et fauves, inodore, astringente et amère. » (*Pharmacopoeia of the United States* 1880. [88]).

Déviatiôn l=2.

initiale	— 2°39'
après invertine	— 2°45'
après émulsine 6 ^e jour.....	— 2°15'
13 ^e »	— 1°21'
30 ^e »	+ 9'

Matières réductrices en glucose p. 100 cm³.

initiales	0g.,5874
après invertine	0g.,6162
après émulsine 6 ^e jour.....	0g.,6162
13 ^e »	0g.,6162
30 ^e »	0g.,6162

Par invertine :

recul	6'
sucré formé	0g.,0288
INDICE	288

Par émulsine (*) :

retour	2°54'
sucré formé	0
INDICE	0

L'indice (0) si caractéristique du verbénaloside montre bien que cet hétéroside se trouve seul dans cette drogue.

La quantité de verbénaloside calculé d'après le retour de la

(*) La solution extractive est très riche en tannin ; ce produit entraîne et inactive l'émulsine au cours de l'essai biochimique. Il est nécessaire de faire des additions successives de ferment, pour obtenir l'hydrolyse complète du verbénaloside.

déviatiou est de 7 g., 80 par kg. d'écorce sèche. Dans un chapitre précédent (*) j'ai trouvé que la Verveine officinale sèche renferme (dans l'expérience rapportée) 19 g., 60 par kg. de ce corps et que les parties aériennes sèches de la plante correspondant à la drogue commerciale contiennent 22 g., 8 d'hétéroside par kg. de tissu sec.

Le produit commercial le plus favorable à l'extraction du verbénalosite est donc fourni par la Verveine officinale, environ trois fois plus riche que l'écorce de racines de *dog-wood*. De plus la forte teneur en sels minéraux et en tannin de cette écorce rend difficile cette opération.

**

Les *Cornus* indigènes contiennent-ils aussi du verbénalosite ? J'ai fait deux essais biochimiques sur les écorces de racines de *Cornus Mas* L. et *Cornus sanguinea* L.

Cornus Mas L. France, Europe, Asie boréale.

Ecorce de racines provenant de l'arrachage d'un arbre plus que centenaire au Muséum d'Histoire Naturelle (nov. 1936).

Ecorce fine, rouge, saveur très astringente, non amère.

Solutions extractives extrêmement rouges.

Déviatiou 1=2.

initiale	+ 1° 6'
après invertine	— 21'
après émulsine	— 6'

Matières réductrices en glucose p. 100 cm³.

initiales	0g.,5874
après invertine	1g.,3890
après émulsine	1g.,5787

Par invertine :

recul	1°27'
sucré formé	0g.,8016
INDICE	552

(*) V. p. : 187.

Par émulsine :	
retour	27'
sucre formé	0g.,1897
INDICE	421

Cornus sanguinea L. France.

Même origine que pour le *Cornus Mas.* L. (nov. 1936).

Ecorce plus grossière, saveur astringente, non amère. Li-
queurs extractives rouges.

Déviatiou 1=2.

initiale	+1° 8'
après invertine	+ 12'
après émulsine	+ 48'

Matières réductrices en glucose p. 100 cm³.

initiales	1g.,0904
après invertine	1g.,5752
après émulsine	1g.,8096

Par invertine :

recul	56'
sucre formé	0g.,4848
INDICE	519

Par émulsine :

retour	36'
sucre formé	0g.,2344
INDICE	390

Dans ces deux essais sur les écorces de *Cornus Mas.* L. et de *Cornus sanguinea* L., les deux indices trouvés sous l'influence de l'émulsine (421 et 390) sont très différents de celui si spécial du verbenalosite. Il est douteux que cet hétéroside existe dans les parties végétales examinées (*).

(*) — Deux élèves du Professeur F. STERNON, Mme L. NIHOUL-
GHENNE et Mlle G. CORTJENS étudient actuellement les glucides des
Cornus Mas L et *Cornus sanguinea L.*, leurs travaux confirment les
deux essais précédents [84].

CONCLUSIONS

Des 76 essais biochimiques précédents, on peut tirer les conclusions suivantes :

Holosides.

Dans le genre *Verbena*, un holoside à indice très élevé (plus de **1800**) se trouve dans les parties vertes des *Verbena littoralis*, *canadensis*, *stricta*, *teucrioïdes*, *supina*, *hastata* et *officinalis*.

De l'étude plus approfondie de la Verveine officinale, on constate que ce sucre se trouve dans toutes les parties de la plante riches en chlorophylle (jeunes plantes, feuilles, bouton floral, fruits verts), mais jamais dans les parties souterraines. Dans les parties aériennes il apparaît en mai et s'y maintient durant les mois chauds de l'année (juin, juillet, août et septembre). Il ne disparaît pas au cours de la dessiccation. Sa quantité exprimée en glucose sous l'action de l'invertine est faible, n'atteignant pas 0 g., 500 p. 100 g. de plante fraîche.

Cet holoside ne se trouve pas dans les autres genres examinés.

J'ai extrait à l'état cristallisé du stachyose à partir des tiges et des racines du *Verbena officinalis* L. et des parties souterraines du *Verbena venosa* GILL. et Hook.

L'étude des variations glucidiques mensuelles de la Verveine officinale montre que cet holoside existe toute l'année dans les parties souterraines avec un maximum d'octobre à mars. Dans les parties aériennes il s'y trouve en septembre, octobre, novembre... ..avril et mai, localisé dans la tige.

Dans les *Verbena bonariensis*, *hispida* et *venosa* il a été également décelé.

Parmi les autres genres de Verbénacées étudiées, les *Callicarpa* aff. *americana*, *C. Giraldiviana*, *Caryopteris glutinosa*, *C. Mastacanthus* et *Lippia repens* semblent également en contenir.

Ce sucre paraît être un glucide mis en réserve dans les parties souterraines et dans les tiges après la vie active de la plante. Les plantes où je l'ai trouvé ont été examinées d'août à avril ; on peut se demander si celles où les recherches furent négatives, l'essai étant fait durant l'été, n'en auraient pas renfermé pendant l'automne ou l'hiver.

Découvert dans le *Stachys tuberosa* L. (A. VON PLANTA, et E. SCHULZE [91], il fut retrouvé dans beaucoup d'autres Labiées (L. PIAULT [89], J. KHOURI [74]), dans les Jasminées (J. VINTILESCO [107]), dans la manne du frêne (CH. TANRET [101]), dans les Légumineuses (R. SIBASSIÉ [99 bis], A. MEUNIER [80], G. TANRET [103], J. PIERRAERTS et G. TANRET [90]) et récemment dans les Plantaginacées (H. HÉRISSEY et M. GRAVOT [63]).

La démonstration de l'existence de ce sucre dans diverses familles botaniques amène à penser qu'on le retrouvera dans de nombreuses autres plantes. Il ne s'agit donc pas d'un glucide rare, mais d'un corps dont la répartition apparaît de plus en plus large et qui doit jouer un rôle important en biologie végétale.

Verbénaloside.

Cet hétéroside se trouve dans tous les organes du *Verbena officinalis* L. Les parties florales, boutons, fleurs et fruits en sont plus particulièrement riches, la graine par contre en est pauvre.

La dessiccation de la plante fait perdre environ 27 p. 100 de la teneur en verbénaloside.

Si on suit l'évolution de cet hétéroside dans la plan-

te au cours de la végétation d'une année on constate que sa quantité suit une marche inverse dans les parties aériennes et souterraines. D'avril à juin, il diminue dans les racines et augmente dans les parties aériennes. En juillet, alors que la végétation passe par un maximum, l'hétéroside s'abaisse dans toute la plante ; comme le montre l'étude des variations glucidiques dans dix plantes, il s'agit seulement d'une augmentation encore plus rapide des autres substances qui amoindrit la teneur p. 100. D'août à décembre, mois où la plante se fane, le verbénaloside diminue dans les parties aériennes et s'accumule dans la racine. Durant l'hiver, sa teneur reste la même jusqu'au départ de la végétation.

Un faisceau d'arguments est en faveur de l'utilisation du verbénaloside par la Verveine officinale.

Dans six Verveines sur quinze, des indices compris entre 0 et 37 peuvent faire admettre la présence de ce même hétéroside. Ce sont les *Verbena hastata*, *stricta*, *teucrioïdes*, *littoralis*, *supina*, *prostrata*.

Cet hétéroside n'a pas été retrouvé dans dix-huit espèces de Verbénacées différentes du genre *Verbena* et appartenant à neuf genres. De même, on n'a pu le déceler dans deux Myoporinées, examinées à cause de la parenté botanique de cette famille avec les Verbénacées.

Un essai biochimique sur les écorces sèches de racines de *Cornus florida* L. (drogue américaine) a permis de trouver une teneur en verbénaloside environ du tiers de celle contenue dans les parties aériennes sèches de la Verveine officinale, celle-ci constituant la seule drogue européenne que l'on sait renfermer ce corps.

Deux essais effectués sur des *Cornus* indigènes, *C. Mas* L. et *C. sanguinea* L. ne révèlent pas la présence de cet hétéroside.

Le fait que le verbénaloside qui n'existe que dans certaines espèces de Verveines, n'est pas retrouvé dans les autres genres examinés de la famille et se trouve dans une Cor-

nacée américaine peut paraître à première vue surprenant. Ces faits sont cependant bien connus des spécialistes de la question qui savent qu'il n'y a pas une harmonie constante entre les caractères morphologiques et la composition chimique des végétaux, c'est ainsi que pour emprunter deux exemples donnés dans le travail de A. MEUNIER [80], on trouve de l'arbutoside vrai dans : divers *Pirus* (EM. BOURQUELOT et M^{lle} FICHTENHOLZ [16] ; *Pyrola rotundifolia* (A. FICHTENHOLZ [48]) ; *Grevillea robusta* (EM. BOURQUELOT et A. FICHTENHOLZ [17]) ; diverses Ericacées (EM. BOURQUELOT et A. FICHTENHOLZ [18]) ; *Hakea laurina* (EM. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY [21]) ; *Lathyrus niger* (A. MEUNIER [80]).

De même l'aucuboside est rencontré dans divers plantains (L. BOURDIER [6], H. HÉRISSEY et M. GRAVOT [63]), divers *Aucuba* (C. LEBAS [77]) , divers *Garrya* (H. HÉRISSEY et C. LEBAS [65]), divers rhinantes, mélamphyres et autres Scrofulariacées (M. BRIDEL et M. BRAEKE [32, 33], C. CHARRAUX [36]).

Hétérosides autres que le verbénaloside. — Dans toutes les plantes examinées, des hétérosides ont été trouvés, en général en faible quantité, sauf toutefois dans le *Baillonia spicata* pour lequel on observe un retour de 11°4' sous l'action de l'émulsine.

Dans les *Lantana camara*, *Duranta Plumieri*, *Lippia citriodora*, *Vitex Agnus castus* et *Vitex Negundo*, l'émulsine dédouble des hétérosides dont l'aglucone se transforme en substances mélaniques.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Etude chimique

En 1908, L. BOURDIER a extrait du *Verbena officinalis* L. un hétéroside cristallisé : le *verbénaloside*. Il a indiqué les constantes physiques de ce corps, a insisté sur son pouvoir réducteur, les combinaisons qu'il donne avec la phénylhydrazine et l'hydroxylamine ; il a pensé qu'il contenait une fonction aldéhydique libre mais n'a pu poursuivre l'étude de sa constitution. Ce corps a été identifié en 1935, par B. REICHERT avec la cornine trouvée par PH. L. GEIGER dans le *Cornus florida* L. et dont E. R. MILLER a donné en 1928 certaines propriétés physiques et chimiques.

La première partie de ce travail continue l'étude physique et chimique de ce corps.

L'extraction a porté sur six kgs de parties aériennes fraîches de Verveine et 105 kgs de parties aériennes sèches correspondant à plus de 450 kgs de plante fraîche.

Un extrait alcoolique privé de la plus grande partie de la chlorophylle par l'éther est épuisé par de l'acétate d'éthyle, on obtient l'hétéroside cristallisé dans les solutions éthéro-acétiques soit directement, soit après concentration.

On peut également simplifier les opérations par des défécations plombiques ou entraîner le corps à l'état de précipité plombique ammoniacal.

Par ces différentes méthodes il a été obtenu environ

1200 g. de verbénaloside impur donnant environ 1000 g. de produit pur recristallisé.

Du verbénaloside a été également extrait des écorces de racines de *Cornus florida* L.

Propriétés physiques. — Cristaux orthorhombiques, anhydres, solubles dans l'eau, l'alcool, fondant à + 180° de pouvoir rotatoire — 180°,62, de saveur très amère. La dispersion rotatoire pour différentes longueurs d'ondes et le spectre d'absorption dans l'ultra-violet sont déterminés. Le poids moléculaire est de 388.

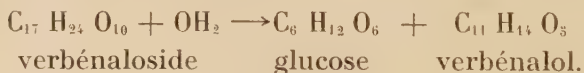
Les solutions aqueuses ne sont pas altérées par le chauffage.

Le produit extrait du *Cornus florida* L. présente les mêmes caractères physiques que le verbénaloside extrait de la Verveine officinale.

Propriétés chimiques. — La formule brute fournie par dix-sept analyses élémentaires est $C_{17} H_{24} O_{10}$.

Le verbénaloside ne précipite pas par l'acétate neutre de plomb, mais le sous-acétate de plomb entraîne une légère diminution du pouvoir réducteur et du pouvoir rotatoire. Le sous-acétate de plomb et l'ammoniaque le précipite entièrement.

Par hydrolyse, il se dédouble en une molécule de *glucose*-d et une molécule d'une aglucone lévogyre et réductrice, le *verbénalol*, selon l'équation :



On a caractérisé dans la molécule :

Un méthoxy.

Une fonction lactone dans laquelle le carboxyle perd facilement son CO_2 par chauffage prolongé avec l'acide sulfurique à 2 g.,50 pour 100 cm³..

L'ouverture du pont lactonique donne de l'*acide verbénalosidique* $C_{17} H_{26} O_{11}$, corps à saveur acide. Les solutions de ses sels sont jaunes. Ils sont hydrolysables par l'émulsine et les acides dilués.

Une double liaison.

Une fonction cétone. Ce corps est très réducteur. Il donne une oxime à forte teneur en azote et une phénylhydrazone. Traité par l'iode en milieu alcalin il forme de l'iodoforme. La réaction de LEGAL est rouge donc le $—CO—$ n'est pas sur un noyau benzénique. L'examen du spectre d'absorption dans l'ultra-violet fait préjuger que cette fonction ne serait pas plus éloignée qu'en β par rapport au noyau.

Par hydrogénation, on obtient un *tétrahydroverbénaloside* $C_{17} H_{28} O_{10}$, cristaux orthorhombiques à saveur amère, qui ne sont plus réducteurs et ne donnent plus la réaction de LEGAL. Il y a donc disparition de la fonction cétone et de la double liaison.

Le tétrahydroverbénaloside est hydrolysable par l'émulsine en glucose et une aglucone non réductrice : l'*hydroverbénalol*.

L'hydrogénation de la fonction cétone stabilise le carboxyle.

Le verbénaloside donne un *acétylverbénaloside* dans lequel l'analyse n'a pu préciser s'il s'agissait d'un dérivé tétra ou pentaacétylé.

Le verbénaloside est un glucoside amer et réducteur. L'amertume est liée à la fonction lactone, en effet, verbénaloside, hydroverbénaloside, acétylverbénaloside, corps à fonction lactone sont amers. L'ouverture du pont lactonique entraîne la suppression de cette saveur. C'est ainsi que l'*acide verbénalosidique* et ses sels ne le sont plus.

Le pouvoir réducteur est dû à la fonction cétone et à la double liaison : l'hydroverbénaloside ne réduit plus la liqueur cupro-alcaline, tandis que l'*acide verbénalosidique* et ses sels le font.

Acide verbénalosidique et tétrahydroverbénaloside étant hydrolysables par l'émulsine sont des glucosides β .

L'acide verbénalique obtenu au cours du dédoublement est très réducteur, faiblement lévogyre, se colorant fortement par le perchlorure de fer. L'hydroverbénalol formé est un corps cristallisé, amer, faiblement lévogyre, non réducteur, ne se colorant pas par le perchlorure de fer.

Le *verbénalol* s'extraît des solutions d'hydrolyse du verbénaloside par l'émulsine, traitées par l'éther. Ce solvant évaporé abandonne des cristaux. Les aiguilles obtenues sont recristallisées dans l'acide acétique. Cristaux anhydres, inodores, de saveur douceâtre. Le verbénalol n'est pas entraînable par la vapeur d'eau. Il a un pouvoir rotatoire faiblement lévogyre ($[\alpha]_D = -29^{\circ},07$).

Le poids moléculaire trouvé est de 205-208. L'analyse élémentaire conduit à la formule $C_{11} H_{14} O_5$.

On caractérise dans sa molécule :

Un méthoxy par la méthode de ZEIZEL.

Deux H mobiles par la méthode de ZÉRÉWITINOFF.

Une fonction lactone, mais le carboxyle y semble plus stable que dans le verbénaloside.

Une fonction cétone, non fixée sur un noyau benzénique, que l'examen du spectre d'absorption dans l'ultra-violet du verbénaloside peut faire préjuger ne pas être plus loin qu'en β par rapport au noyau. C'est à cette fonction cétonique qu'est dû le pouvoir réducteur du verbénalol car l'hydro-verbénalol n'est pas réducteur.

Une double liaison, l'absence de coloration par le tétrahydro-méthane permet de la croire contiguë à la fonction cétone ou à la fonction lactone.

L'existence d'un noyau, le lien glucose-aglucone par un $-OH$ phénolique ou énoïque, l'attribution à certaines parties de la molécule de la réaction de LEGAL et de la coloration par le perchlorure de fer sont discutés dans le chapitre IV sur la constitution du verbénaloside.

Plusieurs schémas de formules réunissant la majorité des faits actuellement connus sont ensuite envisagés.

Etude physiologique

I. — *L'hydrolyse fermentaire.*

Dans l'étude détaillée de l'action de différents produits diastasiques sur cet hétéroside on constate une rapidité plus ou moins grande du dédoublement. Ainsi dans les expériences rapportées, le verbénaloside est dédoublé en trois heures par le suc digestif d'Escargot, en 24 heures par l'émulsine des amandes, en douze jours par la géosidase, en un temps beaucoup plus long par l'émulsine et la poudre de *Sterigmatocystis nigra*, la poudre fermentaire de *Verbena officinalis* L. et la rhamnodiastase.

La poudre fermentaire de Verveine officinale renferme une invertine et une glucosidase β peu active. Elle est capable d'hydrolyser le stachyose qui se trouve dans cette plante.

II. — *Répartition du verbénaloside ainsi que des autres glucides dans les plantes examinées.*

Holosides.

Dans le genre *Verbena*, un holoside à indice très élevé (plus de **1800**) se trouve dans les parties vertes des *Verbena littoralis*, *canadensis*, *stricta*, *teucrioïdes*, *supina*, *hastata* et *officinalis*.

De l'étude plus approfondie de la Verveine officinale, on constate que ce sucre se trouve dans toutes les parties de la plante riches en chlorophylle (jeunes plantes, feuilles, bouton floral, fruits verts) mais jamais dans les parties souterraines. Dans les parties aériennes il apparaît en mai et s'y maintient durant les mois chauds de l'année (juin, juillet, août et septembre).

Il ne disparaît pas au cours de la dessiccation de la plante.

Sa quantité exprimée en glucose sous l'action de l'invertine est faible, n'atteignant pas 0 g.,500 p. 100 g. de plante fraîche.

Cet holoside ne se trouve pas dans les autres genres de Verbénacées examinés.

Du stachyose (indice 548) a été extrait à l'état cristallisé à partir des tiges et des racines du *Verbena officinalis* et des parties souterraines du *Verbena venosa*.

L'étude des variations glucidiques mensuelles de la Verveine officinale montre que cet holoside existe toute l'année dans les parties souterraines avec un maximum d'octobre à mars. Dans les parties aériennes il s'y trouve en septembre, octobre, novembre..... avril et mai, localisé dans la tige. Il a été également décelé dans les *Verbena bonariensis*, *hispida* et *venosa*. Parmi les autres genres de Verbénacées étudiées, les *Callicarpa* aff. *americana*, *C. Giraldiana*, *Caryopteris glutinosa*, *C. Mastacanthus* et *Lippia repens* semblent également en contenir.

Ce sucre paraît être un glucide mis en réserve dans les parties souterraines et dans les tiges après la vie active de la plante. Les plantes où je l'ai trouvé ont été examinées d'août à avril ; on peut se demander si celles où les recherches furent négatives, l'essai étant fait durant l'été, n'en auraient pas renfermé pendant l'automne ou l'hiver.

On l'a déjà caractérisé et extrait dans des plantes appartenant aux Labiées, aux Jasminées, aux Oléacées, aux Légumineuses, aux Plantaginacées. La démonstration de l'existence de ce sucre dans diverses familles botaniques amène à penser qu'on le retrouvera dans de nombreuses autres plantes. Il ne s'agit donc pas d'un glucide rare, mais d'un corps dont la répartition apparaît de plus en plus large et qui doit jouer un rôle important en biologie végétale.

Verbénaloside.

Cet hétéroside se trouve dans tous les organes du *Verbena officinalis* L.. Les parties florales, boutons, fleurs et

fruits en sont plus particulièrement riches, la graine par contre en est pauvre.

La dessiccation de la plante fait perdre environ 27 p. 100 de la teneur en verbénaloside.

Si on suit l'évolution de cet hétéroside dans la plante au cours de la végétation d'une année on constate que sa quantité suit une marche inverse dans les parties aériennes et souterraines. D'avril à juin, il diminue dans la racine et augmente dans les parties aériennes. En juillet, alors que la végétation passe par un maximum, l'hétéroside s'abaisse dans toute la plante ; comme le montre l'étude des variations glucidiques dans dix plantes, il s'agit seulement d'une augmentation encore plus rapide des autres substances qui amoindrit la teneur p. 100. D'août à décembre, mois où la plante se fane, le verbénaloside diminue dans les parties aériennes et s'accumule dans la racine. Durant l'hiver sa teneur reste la même jusqu'au départ de la végétation.

Un faisceau d'arguments est en faveur de l'utilisation du verbénaloside par la Verveine officinale.

Dans six Verveines sur quinze, des indices compris entre 0 et 37 peuvent faire admettre la présence de cet hétéroside, ce sont les *Verbena hastata*, *stricta*, *teucrioïdes*, *littoralis*, *supina*, *prostrata*.

Il est curieux de constater qu'exception faite du *Verbena prostrata* les Verbénacées paraissant contenir du verbénaloside sont également celles qui possèdent l'holoside à indice élevé signalé plus haut.

Cet hétéroside n'a pas été retrouvé dans dix-huit espèces de Verbénacées différentes du genre *Verbena* et appartenant à neuf genres. De même, on n'a pu le décèler dans deux Myoporinées, examinées à cause de la parenté botanique de cette famille avec les Verbénacées.

Un essai biochimique sur les écorces sèches de racines de *Cornus florida* L. (drogue américaine) a permis de trouver une teneur en verbénaloside environ du tiers de celle contenue dans les parties aériennes sèches de Verveine offici-

nale, celle-ci constituant la seule drogue européenne que l'on sait renfermer ce corps.

Deux essais effectués sur des *Cornus* indigènes *C. Mas* L. et *C. sanguinea* L. ne révèlent pas la présence de cet hétéroside.

Le fait que le verbénaloside qui n'existe que dans certaines espèces de Verveines, n'est pas retrouvé dans les autres genres examinés de la famille des Verbénacées et se trouve dans une Cornacée américaine peut paraître à première vue surprenant. Ces faits sont cependant bien connus des spécialistes de la question qui savent qu'il n'y a pas une harmonie constante entre les caractères morphologiques et la composition chimique des végétaux.

Hétérosides autres que le verbénaloside.

Dans toutes les plantes examinées, des hétérosides ont été trouvés, d'ailleurs généralement en faible quantité, sauf toutefois dans le *Baillonia spicata* pour lequel on observe un retour de 11°4' sous l'action de l'émulsine.

Dans les *Lantana camara*, *Duranta Plumieri*, *Lippia citriodora*, *Vitex Agnus Castus*, et *Vitex Negundo*, l'émulsine dédouble des hétérosides dont l'aglucone se transforme en substances mélaniques.

DEUXIÈME THÈSE

ACTION DU VERBÉNALOSIDE SUR QUELQUES ORGANISMES

Vu et approuvé :

Paris, le 23 juillet 1937

LE DOYEN DE LA FACULTÉ
DES SCIENCES
CH. MAURAIN

Vu et permis d'imprimer

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE
DE PARIS
S. CHARLÉTY

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

NOTA. — 1° Les numéros de la colonne de gauche sont placés entre crochets dans le texte à côté des mémoires cités.

2° Les chiffres de la colonne de droite renvoient aux pages du texte où se trouve mentionné le travail référé.

3° Le numéro de la page du mémoire correspond au commencement de l'article.

Nos	Pages :
1. BERTRAND G. — Sur quelques réactions colorées des hydrates de carbone. <i>Bull. Soc. Chim.</i> , 1891, 6, 259.	47
2. BERTRAND G. — Sur le pouvoir oxydant de la lacase. <i>Bull. Soc. Chim.</i> , 1895, 13, 361	136
3. BERTRAND G. — Sur le dosage des sucres réducteurs. <i>Bull. Soc. Chim.</i> , 1906, 35, 1285.	37, 48, 76, 143
4. BERTRAND G. — Rectification au mémoire de M. P. THOMAS sur une nouvelle réaction des pentoses. <i>Bull. Soc. Chim.</i> , 1925, 7, 437.....	47
5. BOUGAULT J. et GROS R. — Caractérisation des cétones et dosage des aldéhydes par le réactif de Nessler. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1922, 26, 5.	38, 76
6. BOURDIER L. — Sur la présence de l'aucubine dans les différentes espèces du genre <i>Plantago</i> . <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1907, 26, 194 et 254.	308
7. BOURDIER L. — Sur la verbénaline, glucoside nouveau retiré de la verveine off. (<i>V. officinalis</i> L.). <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1908, 27, 49 et 101.	5, 18
8. BOURDIER L. — Recherche biochimique des glucosides dans le plantain (aucubine) et dans la verveine (verbénaline). Etude d'un glucoside nouveau : la verbénaline. <i>Thèse Doct. Univ. (Pharm.)</i> 1908, Levé. Paris. 5, 18, 49. 185	49, 185
9. BOURQUELOT Em. — Ferments solubles oxydants et médicaments. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1896, 4, 484. ...	181

N ^{os}	Pages :
10. BOURQUELOT EM. — Sur l'emploi des enzymes comme réactifs dans les recherches de laboratoire. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1907, 25, 383.	49, 141
11. BOURQUELOT EM. — Nouvelle contribution à la méthode biochimique de recherche dans les végétaux des glucosides hydrolysables par l'émulsine. Son application à l'étude des plantes employées en médecine populaire. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1910, 2, 241	141, 144, 145
12. BOURQUELOT EM. et BRIDEL M. — De l'action hydrolysante et de l'action synthétisante de l'émulsine dans l'alcool méthylique. Obtention de méthylglucoside β . <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1912, 6, 56	49
13. BOURQUELOT EM. et BRIDEL M. — Synthèses de glucosides d'alcool à l'aide de l'émulsine. Méthylglucoside β , éthylglucoside β , propylglucoside β . <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1912, 6, 97.	49
14. BOURQUELOT EM. et BRIDEL M. — Recherche et caractérisation du glucose dans les végétaux par un procédé biochimique nouveau. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1920, 22, 209.	48, 49
15. BOURQUELOT EM. et FICHTENHOLZ A. — Arbutine et méthylarbutine. Caractères, distinction et recherches dans les végétaux. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1910, 1, 62, et 104	145
16. BOURQUELOT EM. et FICHTENHOLZ A. — Sur la présence d'un glucoside dans les feuilles de poirier et sur son extraction. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1910, 2, 97	308
17. BOURQUELOT EM. et FICHTENHOLZ A. — Sur la présence de l'arbutine dans les feuilles de <i>Grevillea robusta</i> . <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1912, 5, 425	308
18. BOURQUELOT EM. et FICHTENHOLZ A. — Application de la méthode biochimique à la recherche du saccharose et des glucosides dans quelques Ericacées. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1913, 8, 158	308
19. BOURQUELOT EM. et HÉRISSEY H. — Action de l'émulsine de l' <i>Aspergillus Niger</i> sur quelques glucosides. <i>Bull. Soc. Myco. France</i> , 1895, 11, 199	124
20. BOURQUELOT EM. et HÉRISSEY H. — Sur l'origine et la composition de l'essence de benoîte, glucoside et enzyme nouveaux. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1905, 21, 481	121
21. BOURQUELOT EM. et HÉRISSEY H. — Application de la méthode biochimique à l'étude des feuilles fraîches	

N ^{os}	Pages :
d' <i>Hakea laurina</i> R. BR. Extraction de quebrachite et d'arbutine. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1919, 19, 251	308
22. BOURQUELOT EM. et VERDON EM. — La réversibilité des actions fermentaires. Emulsine et méthylglucoside β . <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1913, 7, 377	48
23. BRAEKE M. — Application de la méthode biochimique de BOURQUELOT à la recherche des sucres et des glucosides dans quelques plantes de la famille des Scrofulariacées. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> 1922, 4, 407	308
24. BRAEKE M. — Sur la présence d'aucubine et de mélampyrite dans plusieurs espèces de mélampyres. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> 1923, 5, 207	308
25. BRAEKE M. — Sur la présence d'aucubine et de mannite dans les tiges foliées de <i>Rhinanthus Crista-Galli</i> L. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> 1923, 5, 258.....	308
26. BRAEKE M. — L'aucubine dans les espèces de <i>Rhinanthus</i> et de <i>Melampyrum</i> et sa recherche dans quelques autres Scrofulariacées. <i>Thèse Doct. Univ. (Pharm.)</i> Paris, 1924	308
27. BRAEKE M. — Variations dans la composition du <i>Rhinanthus Crista Galli</i> L. ; du <i>Melampyrum arvense</i> L. et du <i>Melampyrum pratense</i> L. au cours de la végétation d'une année. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> , 1925, 8, 155 ...	196. 308
28. BRIDEL M. — Variations dans la racine de gentiane au cours de la végétation d'une année. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1911, 3, 294	195
29. BRIDEL M. — Variations dans la composition du trèfle d'eau (plante entière) au cours de la végétation d'une année. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1913, 7, 535	195
30. BRIDEL M. — Le rôle des glucosides dans les plantes. <i>Rev. gén. Sc.</i> , 1926, 37, 134	226
31. BRIDEL M. et BOURDOUIL C. — L'unédoside, nouveau glucoside hydrolysable par l'émulsine, retiré des feuilles et des rameaux frais de l'arbousier. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> , 1930, 12, 910	37, 148
32. BRIDEL M. et BRAEKE M. — Application de la méthode biochimique de BOURQUELOT aux tiges foliées et aux graines de <i>Melampyrum arvense</i> L. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> 1922, 4, 96.	308
33. BRIDEL M. et BRAEKE M. — Sur la présence d'aucubine et de saccharose dans les graines de <i>Rhinanthus</i>	

N ^{os}	Pages :
<i>Crista-Galli</i> L. Rhinanthine et aucubine. La rhinanthine est de l'aucubine impure. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> 1923, 5, 10.	308
34. BRIDEL M. et CHARAUX C. — Le produit fermentaire extrait des graines de divers <i>Rhamnus</i> ou <i>rhamno-diastase</i> . <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> , 1926, 8, 35	123
35. BRIDEL M. et RABATÉ J. — Variations dans la composition des rameaux frais de l'Amélanchier (<i>Amelanchier vulgaris</i> MOENCH). <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> , 1930, 12, 140	196
36. CHARAUX C. — Sur la présence d'aucubine dans les graines de <i>Veronica hederifolia</i> L. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> 1922, 4, 568	308
37. CHARAUX C. — Sur le dédoublement biochimique de la rutine. Rutinose, nouveau biose provenant de ce dédoublement. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> , 1924, 6, 631.	123
38. CHEYMOL J. — Sur la composition chimique de la racine de <i>Geum urbanum</i> L. <i>Thèse Doct. Univ. (Pharm.)</i> 1927, Arnette, Paris	118, 122
39. CHEYMOL J. — Variations dans la composition glucidique de la racine de Benoîte (<i>Geum urbanum</i> L.) au cours de la végétation d'une année. (Octobre 1929 — Septembre 1930) <i>Bull. Soc. Chim. Biol.</i> 1931, 13, 470	196
40. CHEYMOL J. — Sur le verbénalol <i>C. R. Ac. Sc.</i> , 1936, 203, 543	58
41. CHEYMOL J. — Sur le verbénaloside. <i>C. R. Ac. Sc.</i> , 1936, 203, 814	29
42. CHEYMOL J. — Action du verbénaloside sur quelques organismes. <i>Thèse Doct. ès-Sc.</i> , 1937, Clerc, Saint-Amand	225, 226
43. COMBES R. — Recherches biochimiques expérimentales sur le rôle physiologique des glucosides chez les végétaux. <i>Rev. gén. Bot.</i> 1917, 29, 321, 353. 1918, 30, 5, 33, 70, 106, 146, 177, 226, 245, 283, 321, 355	107, 226
44. COMBES R. — La vie de la cellule végétale, 1929. Armand Colin, Paris, 2, 127	107, 226
45. COMBES R. — La nutrition glucidique de la corolle. <i>C. R. Ac. Sc.</i> , 1936, 203, 1282	175
46. DELÉPINE M. et HOREAU A. — Sur l'hydrogénation de quelques composés carbonylés par le nickel et le nickel platiné. Influence d'un alcali. <i>C. R. Ac. Sc.</i> 1935, 201, 1301	39, 83

N ^{os}	Pages :
47. DELÉPINE M. et HOREAU A. — Sur l'hydrogénation de quelques composés carbonylés par le nickel et le nickel recouvert des métaux de la famille du platine. Influence d'un alcali. <i>Bull. Soc. Chim.</i> , 1937, 4, 31	39, 83
48. FICHTENHOLZ A. — Le glucoside de la pyrole à feuille ronde. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1910, 2, 193	308
49. FRANÇOIS M. et SÉGUIN L. — Sur les réactions colorées des phénols d'usage courant. <i>Bull. Soc. Chim.</i> 1931, 49, 680	68
50. FREY A. G. — On some Constituents of <i>Cornus florida</i> L. <i>Amer. Journ. Pharm.</i> , 1879, 51, 390	18
51. GEIGER Ph. L. — Einige Versuche mit der Wurzelrinde von <i>Cornus florida</i> , besonders zur Darstellung eines angeblichen organischen Alkali's. <i>Cornin. Ann. Pharm.</i> 1835, 14, 206	6, 18
52. GIAJA J. — Etude des ferments des glucosides et des hydrates de carbone chez les Mollusques et chez les Crustacés. <i>Thèse Doct. ès-Sc.</i> , 1909, Jouve, Paris.....	126
53. GILLOT P. — Variation et migration des matières sucrées dans la mercuriale vivace au cours de sa végétation annuelle. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1922, 26, 250	196
54. GORIS A. — Le rôle des glucosides en biologie. <i>Rev. gén. Sc.</i> , 1921, 32, 337	226
55. GROS M. — Contribution à l'étude du GENRE MYOPORUM. <i>Thèse Doct. Univ. (Pharm.)</i> , 1914, Montpellier ..	295
56. HARANG P. — Recherche et dosage du tréhalose dans les végétaux à l'aide de la tréhalase. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1906, 23, 16	125
57. HÉRISSEY H. — Recherches sur l'émulsine. <i>Thèse Doct. Univ. (Pharm.)</i> , 1899, Declume, Lons-le-Saulnier..	118
58. HÉRISSEY H. — Les glucosides. <i>Bull. Soc. Chim.</i> , 1923, 33, 349	226
59. HÉRISSEY H. — Sur la présence d'un glucoside dédoublable par l'émulsine dans le <i>Baillonia spicata</i> H. Bn. et sur les produits de dédoublement de ce glucoside. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> , 1925, 7, 194	261, 292
60. HÉRISSEY H. — Sur la recherche de l'aspéruloside dans les végétaux. Extraction de ce glucoside du <i>Galium aparine</i> . <i>Bull. Soc. Chim. Biol.</i> , 1926, 8, 221 et 489	282
61. HÉRISSEY H. — Sur le lusitanicoside. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1934, 19, 527	14, 46

N ^{os}	Pages :
62. HÉRISSEY H. et CHEYMOL J. — Sur les sucres fournis par la géine (géoside) ; obtention de vicianose par hydrolyse fermentaire de ce glucoside. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1926, 3, 156	122
63. HÉRISSEY H. et GRAVOT M. — Présence de stachyose (mannéotétrose) et d'aucuboside (aucubine) dans les <i>Plantago maritima</i> L. et <i>P. carinata</i> SCHRAD. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1935, 22, 537	306, 308
64. HÉRISSEY H. et LAFOREST J. — Sur un hétéroside extrait du Laurier de Portugal. <i>Cerasus lusitanica</i> LOIS. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> 1933, 15, 350	14
65. HÉRISSEY H. et LEBAS C. — Présence de l'aucubine dans plusieurs espèces du genre <i>Garrya</i> . <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1910, 2, 490	282, 308
66. HÉRISSEY H. et SIBASSIÉ R. — Recherches biochimiques sur la nature et la quantité des principes hydrolysables par l'invertine et par l'émulsine contenus dans quelques graines de Légumineuses. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1924, 30, 345	166
67. JACOBS A. W., HOFFMAN A. and GUSTUS L. E. — The association of the double bond with the lactone group in the cardiac aglucones. <i>Journ. Biol. Chem.</i> , 1926, 70, 1	107, 111
68. JACOBS A. W., and GUSTUS L. E. — Strophantin. <i>Journ. Biol. Chem.</i> , 1927, 74, 795	107
69. JACOBS A. W., and GUSTUS L. E. — The digitalis glucosides. <i>Journ. Biol. Chem.</i> 1929, 82, 403	107
70. JACOBS A. W. and FLECK, ELMER E. — Strophantin. <i>Journ. Biol. Chem.</i> , 1932, 97, 57	107
71. JACOBS A. W. and ELDERFIELD R. C. — Strophantin. <i>Journ. Biol. Chem.</i> 1932, 97, 727	107
72. JOUNIAUX M. — Etude de quelques mélanges binaires contenant du camphre. <i>Bull. Soc. Chim.</i> 1912, 11, 546.	66
73. JOUNIAUX M. — Sur l'utilisation du camphre comme solvant cryoscopique. <i>Bull. Soc. Chim.</i> 1912, 11, 722.	66
74. KHOURI J. — Sur la présence du stachyose (mannéotétrose) et d'un glucoside dédoublable par l'émulsine dans les parties souterraines de l' <i>Eremostachys laciniata</i> L. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1910, 2, 211	306
75. KLINCKSIECK P. et VALETTE Th. — Code des couleurs 1908, <i>Klincksieck</i> , Paris	67

N ^{os}	Pages :
76. KRAMER A. — Sur le philyroside (philyrine) et son hydrolyse par l'émulsine. <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> 1933, 15, 665	49
77. LEBAS C. — Sur la présence d'aucubine dans diverses variétés d' <i>Aucuba Japonica</i> L. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1909, 30, 390	308
78. LEFEBVRE C. — Sur la taxicatine, glucoside nouveau retiré du <i>Taxus baccata</i> L. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> , 1907, 26, 241	17
79. LÉMERY N. — Traité universel des drogues simples. 1714, <i>Laurent d'Houry</i> , Paris, 881	68
80. MEUNIER A. — Contribution à l'étude des glucides dans quelques espèces indigènes du genre LATHYRUS, Papilionacées. <i>Thèse Doct. ès-Sc.</i> 1933, <i>Declume</i> , Lons-le-Saulnier	141, 196, 306, 308
81. MEYER H. — Analyse et détermination de la constitution des composés organiques. 1924, <i>A. Michel</i> , Paris, 2, 806	99
82. MILLER E. R.-Cornin : A glucosid from « <i>Cornus florida</i> L. » <i>Journ. Amer Pharmaceut. Assoc.</i> 1928, 17, 745. 6, 18, 301	
83. MOHR F. — Ueber Traubenzuckerbestimmung, auf das Kupferoxydul bezogen. <i>Ztsch. für anal. Chem.</i> , 1872, 12, 296 et 1373	37, 143
84. NIHOUL-GHENNE L. et CORTJENS G. — Etude des variations glucidiques du <i>Cornus sanguinea</i> L. au cours de la végétation d'une année. <i>Journ. Pharm. Belg.</i> , 1937, 332, 348, 368	304
85. OSTROMISLENSKY. — I. Bemerkung zu A. WERNERS Mitteilung « Zur Frage den Beziehungen zwischen Farbe und Konstitution ». <i>Ber. d. ch. G.</i> , 1910, 43, 197 ...	78
86. PHARMACOPOE DER BEREINIGTEN STAATEN VON NORDAMERIKA LEIPZIG 1844, 14	19, 301
87. PHARMACOPOEIA OF THE UNITED STATES. — Fifth decennial revision Philadelphia 1873, 28	19, 301
88. PHARMACOPOEIA OF THE UNITED STATES. — Sixth décennial revision New-York, 1882, 87	19, 301, 302
89. PIAULT L. — Sur le stachyose, sa recherche et sa présence dans la famille des Labiées. <i>Thèse Doct. Univ. (Pharm.)</i> 1910, <i>Levé</i> . Paris	309
90. PIERRAERTS J. et TANRET G. — Sur les graines du <i>Tetrapleura Thonningii</i> . <i>Bull. Soc. Chim. biol.</i> 1930, 12, 457	306

N ^{os}	Pages :
91. PLANTA A. VON ET SCHULZE E. — Ueber ein neues krystallisirbares Kohlenhydrat. <i>Ber. d. ch. G.</i> , 1890, 23 , 1692	165, 306
92. RABATÉ J. — Contribution à l'étude biochimique des « Salicacées ». <i>Thèse Doct. és-Sc.</i> 1934, Declume, Lons-le-Saulnier	136, 196
93. RABATÉ J. — Détermination de la teneur en hydroxyles des glucosides par acétylation pyridinée. <i>Bull. Soc. Chim.</i> 1936, 3 , 2113	97
94. RAMART LUCAS Mme et RABATÉ J. — Structure des hétérosides d'après leurs spectres d'absorption. <i>C. R. Ac. Sc.</i> 1933, 196 , 1493	40
95. RAST. K. — Mikro Molekulargewichts Bestimmung in Schmelzpunktsapparat. <i>Ber. d. ch. G.</i> — 1922, 55 , 1051	66
96. REICHERT B. — Über die Inhaltsstoffe von <i>verbena officinalis</i> L. I.-Mitteilung : Die Identität des Verbenalins mit Cornin. <i>Arch. der Pharm.</i> , 1935, 273 , 357	6, 18, 28, 301
97. REICHERT B. und HOFFMAN W. — Über die Inhaltsstoffe von <i>Verbena officinalis</i> L. II. - Mitteilung : Zur Konstitution des Cornins. <i>Arch. der Pharm.</i> 1937, 275 , 474	96, 97
98. RIEDEL J. D. — Verfahren zur Darstellung von verbenalin A. - G. Berlin Britz D. R. P. 358873 (R. 49785) in <i>Friedlander Fortschritte der Teerfarbenfabrikation</i> , 1921 - 1925, 14 , 1311	17
99. RUZICKA L., HUYSER H. W., PFEIFFER, M. SEIDEL C. F. - Höhere Terpenverbindungen XXXVIII Zur Kenntnis der Amyrine und des Lupeols. <i>Ann. der. Chem.</i> 1929, 471 , 21	78
99 bis. SIBASSIÉ R. — Recherches sur les glucides contenus dans quelques graines de Légumineuses. <i>Thèse doct. univ. (pharm.)</i> , 1927, Declume, Lons-le-Saulnier ..	306
100. TANRET CH. — Sur la picéine, glucoside des feuilles du sapin epicea (<i>pinus picea</i>). <i>C. R. Ac. Sc.</i> 1894, 119 , 80	17
101. TANRET CH. — Sur le stachyose. <i>Bull. Soc. Chim.</i> , 1903, 24 , 888	165, 306
102. TANRET Ch. et G. — Sur la rhamninase et la xanthorhamnine. <i>Bull. Soc. Chim.</i> 1889, 21 , 1073	123
103. TANRET G. — Sur la présence du stachyose dans	

N ^{os}	Pages :
le haricot et les graines de quelques autres Légumineuses. <i>Bull. Soc. Chim.</i> 1913, 13 , 176	306
104. TISSIER et GRIGNARD V. — Sur les composés organo-métalliques du magnésium. <i>C. R. Ac. Sc.</i> 1901, 132 , 835.	69
105. VILMORIN, ANDRIEUX et C ^o . — Les plantes potagères — 1904, Paris, 3 ^e édition	254
106. VINTILESCO J. — Recherche et dosage de la syringine dans les différents organes des lilas et des troènes. <i>Journ. Pharm. et Chim.</i> 1906, 24 , 145 et 529	195
107. VINTILESCO J. — Recherches biochimiques sur quelques sucres et glucosides. <i>Thèse Doct. és-Sc.</i> 1910, <i>Levé</i> , Paris	252, 306, 133, 166
108. WATTIEZ N. et STERNON F. — Eléments de chimie végétale, 1935, <i>Masson</i> , Paris 375	141
109. WERNER A. — Zur Frage nach den Beziehungen zwischen Farbe und Konstitution. <i>Ber. d. ch. G.</i> , 1909, 42 , 4324	78
110. ZEREWITINOFF TH. — Quantitative Bestimmung von Hydroxylgruppen mit hilfe magnesium organischen Verbindungen. <i>Ber. d. ch. G.</i> , 1907, 40 , 2023	69

TABLE DES MATIÈRES

	Pages :
Introduction.....	5

ÉTUDE CHIMIQUE DU VERBÉNALOSIDE

CHAPITRE I. — Extraction.....	13
à partir du <i>Verbena officinalis</i> L...	13
à partir du <i>Cornus florida</i> L.....	18
Purification.....	21
Caractères physiques.....	22
Caractères chimiques.....	29
CHAPITRE II. — Hydrolyses.....	43
par l'émulsine.....	45
par l'acide sulfurique.....	49
Étude des produits d'hydrolyse .	
sucre : glucose.....	46
aglucone : verbénalol.	58
CHAPITRE III. — Hétérosides dérivés du verbénalosite.	81
Tétrahydroverbénalosite.....	83
Acide verbénalositique.....	89
Acétylverbénalosite.....	95
Oxime du verbénalosite.....	98
CHAPITRE IV. — Conclusions sur la constitution du ver- bénalosite.....	101

ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE DU VERBÉNALOSIDE

PREMIÈRE PARTIE

L'HYDROLYSE FERMENTAIRE

CHAPITRE I.	
1. — Hydrolyse du verbénalosite par différents ferments.	115
2. — Vitesse comparative de ces divers ferments sur l'hydrolyse de cet hétéroside.....	129

	Pages
3. — Activité fermentaire de la poudre de <i>Verbena officinalis</i> L.....	132
4. — Origine de l'anhydride carbonique dégagé au cours de l'hydrolyse par l'émulsine.....	135

DEUXIÈME PARTIE

RÉPARTITION DANS LA PLANTE DU VERBÉNALOSIDE, AINSI QUE DES AUTRES GLUCIDES.

CHAPITRE I.	
1. — Technique des essais biochimiques.....	141
2. — Etude de l'indice enzymolytique du verbénaloside..	144
3. — Calcul des résultats.....	149
CHAPITRE II. — <i>Verbena officinalis</i> L.....	
1. — Étude comparative des différentes parties de la plante au point de vue glucidique (oses, holosides, verbénaloside).....	153
2. — Modifications apportées par la dessiccation à la composition glucidique.....	181
3. — Variations dans la composition glucidique au cours de la végétation d'une année (août 1935-juil. 1936).	191
CHAPITRE III. — Genre <i>Verbena</i>	
Extraction du stachyose des parties souterraines du <i>V. venosa</i>	252
CHAPITRE IV. — Autres genres de la famille des Verbénacées.....	
CHAPITRE V. — Famille des Myoporinées.....	
CHAPITRE VI. — Ecorces de racines des <i>Cornus florida</i> L., <i>C. Mas. L.</i> , <i>C. sanguinea</i> L.....	
CHAPITRE VII. — Conclusions.....	
Conclusions générales.....	309
Index bibliographique.....	321

